

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Mikrobiologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. E. Küster

Bildung und Wirkung von Phytonziden bei
Gemüse in Abhängigkeit von Sorte und
Anbaubedingungen, sowie die Bedeutung der
Phytonzide für die Lagerungsfähigkeit von Gemüse

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Umweltsicherung
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von
Dipl.-Ing. agr. Sami Özçelik
geb. in Niğde/Türkei

Gießen 1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Mikrobiologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. E. Küster

Bildung und Wirkung von Phytonziden bei
Gemüse in Abhängigkeit von Sorte und
Anbaubedingungen, sowie die Bedeutung der
Phytonzide für die Lagerungsfähigkeit von Gemüse

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Umweltsicherung
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Dipl.-Ing. agr. Sami Özçelik

geb. in Niğde/Türkei

Gießen 1974



DISSERTATION

van de hand van de
aan de Universiteit van Leiden
in de Faculteit der Wetenschappen

- Dekan: Professor Dr. G. Niese
1. Berichterstatter: Professor Dr. E. Küster
 2. Berichterstatter: Professor Dr. H. Linser

Tag der mündlichen Prüfung: 5. September 1974

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
I. EINLEITUNG	1
A. Phytonzide	1
1. Definition	1
2. Chemische Konstitution	2
3. Vorkommen und Rolle der Phytonzide in der Natur	6
B. Problemstellung	9
II. MATERIAL UND METHODEN	11
A. Pflanzen	11
B. Nachweis der Phytonzide	11
1. im Lochtest	11
2. durch Keimzahlbestimmung	14
C. Untersuchung der flüchtigen Bestandteile	16
III. ERGEBNISSE	19
A. Abhängigkeit der Bildung von Phytonziden	19
1. von Alter	19
2. von Anbaubedingungen	20
3. von Sorte	23
B. Wirkung der Phytonzide	24
1. auf Reinkulturen von Bakterien	24
2. auf Reinkulturen von Pilzen	26
3. auf Mischkulturen aus Lebensmittel und Boden	27
C. Einflüsse auf die Wirksamkeit der Phytonzide	37
1. Temperatur	37
2. Bestrahlung	38
3. Konzentration	40
D. Flüchtige Bestandteile der Phytonzide	41
E. Lokalisierung der Phytonzide	44

	<u>Seite</u>
F. Bedeutung der Phytonzide für die Lagerungs- fähigkeit von Gemüse	47
IV. DISKUSSION	54
V. ZUSAMMENFASSUNG	61
VI. ANHANG	63
1. Abbildungen	64
2. Tabellen	70
VII. LITERATURVERZEICHNIS	84

I. EINLEITUNG

A. Phytonzide

Bevor die moderne Pharmazie gegen Krankheiten Medikamente entwickelt hatte, waren verschiedene Pflanzen die wichtigsten Arzneimittel, und man sprach von der heilenden Wirkung der Pflanzen. Seit den vierziger Jahren beschäftigt man sich auch in wissenschaftlicher Hinsicht mit der heilenden Wirkung der höheren Pflanzen.

Solche "natürlichen Pflanzenheilstoffe" wurden seit Altertum und Mittelalter in der Volksheilkunde als Heilmittel angewandt.

LITTLE & GRUBAUGH (1946), VONDERBANK (1950), FREERKSEN & BÖNICKE (1951), KESSLER (1955), WECHSELBERG (1958), CANNON et al. (1961) und NAIMIE (1964) weisen in ihren Arbeiten darauf hin, daß die höheren Pflanzen in der Lage sind, antimikrobielle Stoffe zu synthetisieren.

Manche Pflanzenextrakte enthalten Hemmstoffe, die auch das Auskeimen der Samen unterdrücken (LINSE 1940, KLOSA 1948-49, YARDENI & EVENARI 1952).

1. Definition

Pflanzeninhaltsstoffen mit den oben aufgeführten Eigenschaften hat man den Namen Phytonzide gegeben. Es handelt sich hier um antimikrobielle Stoffe, die von höheren Pflanzen gebildet werden.

Diese Stoffe werden von den Pflanzen produziert, ohne daß ihre Bildung durch die Mikroorganismen induziert wird, gegen die die Phytonzide wirksam sind. Dagegen werden als Phytoalexine Verbindungen mit Hemmstoffcharakter bezeichnet, deren Bildung oder Umwandlung aus wirkungslosen Vorstufen erst bei Anwesenheit oder nach Infektion durch pflanzenpathogene Mikro-

organismen einsetzt, z. B. Rishitin, das ein Phytoalexin aus Kartoffel darstellt, entsteht erst, wenn die Kartoffelknollen geschnitten und mit Phytophthora infestans beimpft sind (TOMIYAMA et al. 1968).

Phytonzide werden nach mechanischer Einwirkung bzw. Zerstörung des Zellgewebes aus inaktiven Ausgangssubstanzen enzymatisch gebildet. Durch eine mechanische Verletzung kommen Substrat und Enzym, die ursprünglich im Pflanzengewebe getrennt lokalisiert sind, in einen reaktionsfähigen Kontakt, und es entstehen Phytonzide (VIRTANEN 1958).

Eine eindeutige Trennung zwischen diesen beiden Stofftypen (Phytonzide und Phytoalexine) läßt sich nicht durchführen.

Der Begriff Phytonzide wurde auf Vorschlag von WAKSMAN (1947) eingeführt.

Der Ausdruck ist unglücklich gewählt und führt leicht zu Mißverständnissen. Er sagt etwas grundsätzlich anderes aus als ähnlich klingende Worte wie z. B. Fungizide, Insektizide und dergleichen.

2. Chemische Konstitution

Die chemische Zusammensetzung der Phytonzide ist je nach Pflanzenart sehr unterschiedlich, und wie man annehmen muß, auch sehr kompliziert. In den Phytonziden besitzen die Pflanzen chemische Abwehr- und Schutzkräfte (Tab. 1).

Es wird darauf hingedeutet, daß antimikrobielle (phytonzide) Eigenschaften der Pflanzen auf ihrem Gehalt an ätherischen Ölen beruhen (DOLD & KNAPP 1948, WEICHAN 1950, WECHSELBERG 1958, KIENHOLZ 1959, RUDAT 1969, KAR & JAIN 1971, RAMADAN et al. 1972b). Bei den flüchtigen Bestandteilen der Phytonzide handelt es sich um ätherische Öle. Es ist bekannt, daß ätherische Öle in der chemischen Zusammensetzung häufig sehr komplizierte Gemische ganz verschiedenartiger Stoffe dar-

Tabelle 1

Stoffe mit Phytonzid-Wirkung bei verschiedenen Pflanzen

Pflanze	Phytonzid	Chemische Ver- bindung	Autor
Möhre	-	Phenolcarbon- säuren	Virtanen 1958
Tomate	Tomatin	Glukosid	Little/Grubaugh u.a. 1946
Oliven	-	Phenole	Fleming et al. 1969
Hopfen	Lupulon	-	Vonderbank 1950
Paprika	-	Alkaloid	Dold & Knapp 1948
Paprika	Capsicidin	-	Gal 1964
Tee	-	Alkaloid	Dold & Knapp 1948
Kaffee	-	Alkaloid	Dold & Knapp 1948
Tulpen	Tuluposid A	Glucosid der Buttersäure	Kämmerer 1967
Tulpen	Tuluposid B	"	Tschesche et al. 1968
Kartoffel	Rishitin	-	Tomiyama et al. 1968
Kartoffel	α -Solanin α -Chaconin	Steroidglyko- alkaloid	Allen/Kuč 1968
Lauchgewächse	-	Lauchöle	Winter/Willeke 1953
Cruciferen	-	Senföle	Virtanen 1958

stellen; es sind Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aldehyde, Ester, Säuren, Amid-, Imido- und Thioverbindungen u. ä. Stoffe (TOKIN 1956).

Detaillierte Angaben liegen über antimikrobiell wirksame Stoffe bei Knoblauch und Zwiebel vor. Die Vorstufen Alliin (Knoblauch) bzw. Dihydroalliin (Zwiebel) werden nach einer enzymatischen Spaltung zu antimikrobiellen Verbindungen Allicin bzw. Di-n-propyl-thiosulfinat umgewandelt (Fig. 1 u. 2).

Fig. 1 Spaltung von Alliin

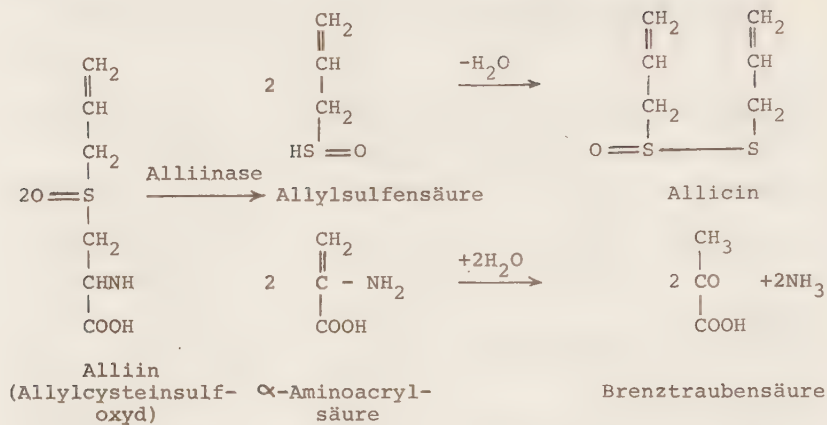
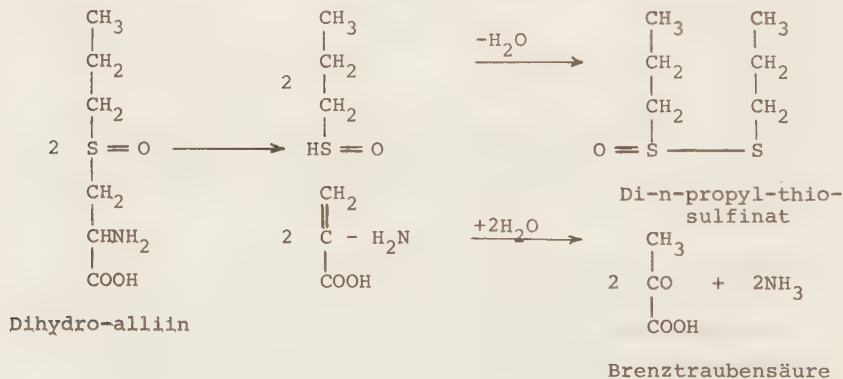


Fig. 2 Spaltung von Dihydro-alliin

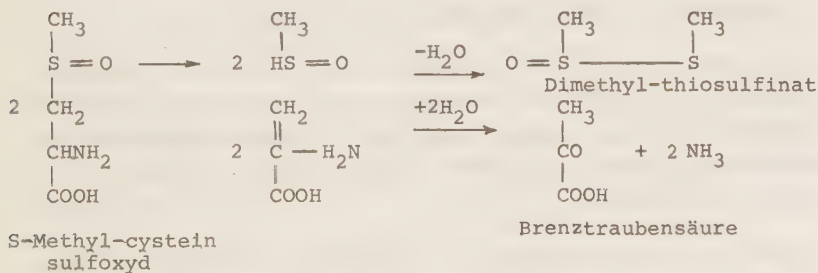


Allicin entsteht enzymatisch beim Zerreiben von Knoblauch (CAVALLITO & BAILEY 1944 a und b), es besitzt einen schwachen, nicht unangenehmen Geruch und hemmt bereits in einer Verdünnung von 1 : 125.000 das Wachstum von grampositiven und -negativen Bakterien, auch solcher, die gegenüber Penicillin resistent sind. STOLL & SEEBECK (1948) klärten die Struktur von Alliin und Allicin auf. Für die enzymatische Spaltung ist die Allinase verantwortlich, die gleichzeitig mit dem Alliin im Knoblauch vorkommt und bei einer Gewebsverletzung aktiviert wird.

Nach VIRTANEN (1958) entsteht eine hohe antimikrobielle Wirkung der Zwiebel enzymatisch auch erst beim Zerreiben. Schon zu Beginn der fünfziger Jahre stellte VIRTANEN in Zwiebel das Vorkommen von Dihydro-alliin fest, aus dem beim Zerreiben das antimikrobiell wirksame Di-n-propyl-thiosulfinat enzymatisch (analog der Bildung von Allicin aus Alliin) entsteht (Fig. 2).

Außer Dihydro-alliin enthält die Zwiebel noch bedeutend größere Mengen von S-Methyl-cystein-sulfoxyd, das auch in Kohl vorkommt (SYNGE & WOOD 1955). In zerriebenen Zwiebeln wird dieses enzymatisch gespalten, wobei neben Brenztraubensäure und Ammoniak Dimethyl-thiosulfinat entsteht, das ebenfalls antimikrobiell wirksam ist (VIRTANEN 1958) (Fig. 3).

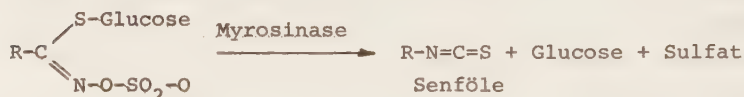
Fig. 3 Spaltung von S-Methyl-cystein-sulfoxyd



Eine tränenreizende Verbindung in der Küchenzwiebel, die Propenylsulfensäure bzw. Thiopropionaldehyd wird von der Ausgangssubstanz S-Propenylcysteinsulfoxyd abgespalten (MARQUARD 1967).

Nach DOLD & KNAPP (1948), WINTER & WILLEKE (1953), VIRTANEN (1958) und RUDAT (1969) beruht die antimikrobielle Wirkung der Cruciferen auf ihrem Senföolgehalt. Ähnlich, wie die Lauchöle, kommen die Senföle in der Regel ebenfalls nicht frei in der Pflanze vor, sondern stellen enzymatische Spaltprodukte der Senfölglicoside dar (VIRTANEN 1958, MARQUARD 1967) (Fig.4).

Fig. 4 Spaltung von Senfölglicosiden



Die Aufspaltung der Glucoside (Hydroxylaminderivate), erfolgt durch das Enzym Myrosinase, das in den Myrosinzellen gespeichert wird und in der unbeschädigten Pflanze durch die räumliche Trennung nicht wirksam werden kann (HEGENAUER 1964).

Senföle sind Ester der hypothetischen Isothiocyansäure, und tragen die Bezeichnung Isothiocyanate (VIRTANEN 1965).

3. Vorkommen und Rolle der Phytonzide in der Natur

Phytonzide sind in der Pflanzenwelt weitverbreitet, sie sind nicht für eine bestimmte Pflanzengruppe charakteristisch. Fast alle Pflanzen erzeugen im Laufe ihrer Lebenstätigkeit Stoffe, die sie gegen Bakterien- und Pilzbefall und auch tierische Schädlinge schützen.

Phytonzide sind biologische Erscheinungen und kommen in den verschiedensten Pflanzenorganen vor, in Blättern, Stengeln,

Wurzeln und Früchten (VONDERBANK 1950, FREERKSEN & BÖNICKE 1951, KESSLER 1955, CANNON et al. 1961, MARUZELLA & MARX 1964). In eingehenden Untersuchungen hat man selbst in Samen Phytonzide nachweisen können (FERENCZY 1956, RUDAT 1969).

WINTER & WILLEKE (1952), VIRTANEN (1958) haben das Vorkommen antimikrobieller Stoffe bei Gramineen nachgewiesen.

Eine ähnliche Wirkung kommt auch bei verschiedenen Gemüsen vor (MA & FONTAINE 1948, KLOSA 1948-49, DOSA 1950, WINTER & WILLEKE 1953, SÖDING & DÖRFFLING 1968, ALLEN & KUC 1968, LANGENFELD 1970).

Nach VIRTANEN (1958), ARK & THOMPSON (1959), RUDAT (1969), AL-DELAIFY & ALI (1970) und KABELIK (1970) besitzen Knoblauch, Zwiebel, Porree (Lauchgewächse) und Cruciferen antimikrobielle Eigenschaften.

Diese Angaben konnten mehr oder weniger in einem ersten Versuch bestätigt werden. 16 verschiedene Gemüsearten wurden auf ihre Phytonzid-Wirkung gegenüber 4 Testorganismen untersucht (Tabelle 2).

Dabei stellte sich heraus, daß der stärkste Effekt bei Knoblauch, Zwiebel und Porree auftrat, auch bei den Kohlarten war noch eine deutliche Wirkung zu erkennen.

Einige Autoren (DOSA 1950, VIRTANEN 1958, RUDAT 1969, KABELIK 1970) betonen die heilende Wirkung und eine pharmazeutische Anwendung von Lauchgewächsen und Cruciferen.

Phytonzide sind Faktoren der Pflanzenimmunität, man kann sie als chemische Schutz- und Heilkräfte der Pflanzen bezeichnen, es sind Stoffe, durch die eine Pflanze sich selbst mehr oder weniger keimfrei hält.

Tabelle 2

Wirkung der Phytonzide auf das Wachstum von Mikroorganismen

Gemüsearten	Zubereitung	Hemmzone mm Bebrütung 36 Stunden bei 25°C			
		Bac. cereus	Esch. coli	Staph. aureus	Sacch. cerevisiae
Knoblauch	Saft	11,6	8,8	13,4	15,5
Zwiebel	"	7,9	-	5,0	8,3
Porree	"	6,5	-	3,5	10,3
Möhre	"	-	-	-	-
Kartoffel	"	1,0	-	-	-
Rote-Bete	"	-	-	-	-
Paprika	"	3,0	-	-	-
Sellerie	"	1,0	-	-	-
Tomate (reif)	"	3,0	-	2,8	-
" (unreif)	"	-	-	-	-
Gurke	"	-	-	-	-
Aubergine	"	-	-	-	-
Grüne Bohne	"	-	-	-	-
Blumenkohl	"	3,4	4,0	6,6	7,8
Weißkohl	"	2,0	-	3,5	5,3
Rettich	"	-	-	-	-
Meerrettich	"	3,0	-	4,0	5,0

Phytonzide gehören zu Faktoren, die das Leben und die Zusammensetzung der Biozönose bestimmen. So wird z. B. behauptet, daß Kartoffeln als Nachfrucht zu Hanf nicht an Phytophthora erkranken (TOKIN 1956). Diese Beobachtung läßt sich möglicherweise dadurch erklären, daß die Phytonzide des Hanfs die für die Kartoffel pathogene Mikroflora ausschalten oder die Entwicklung dieser Mikroflora hemmen.

B. Problemstellung

Die Bevölkerung der Erde wächst ständig. Zur Zeit beträgt die Zahl ca. 3 Milliarden. In den nächsten 30 Jahren rechnet man mit einer Verdoppelung auf 6 - 7 Milliarden. Demgegenüber wird heute vom gesamten Festland unserer Erde mit etwa 13,5 Milliarden Hektar nur rund ein Zehntel durch Acker-, Garten- oder Plantagenwirtschaft genutzt (SCHORMÜLLER 1966).

Durch die landwirtschaftliche Produktion muß die Ernährung der Menschen gesichert werden. Um mit der starken Bevölkerungszunahme Schritt zu halten, muß auch die Nahrungsmittelproduktion gesteigert werden. Noch sind einige Reserven für eine Ertragssteigerung vorhanden, die erschlossen und durch entsprechende Maßnahmen genutzt werden sollen: Mobilisierung der Bodenreserven, Anwendung von modernen Bodenbearbeitungsverfahren, rationelle und optimale Düngung, Verwendung hochwertigen Saatgutes und Intensivierung der Schädlingsbekämpfung.

Die Welternährungslage ist aber nicht nur eine Frage der Produktion, sondern auch neben der Verteilung der Nahrungsmittel, besonders deren Aufbewahrung und verlustfreien Konservierung.

Alle Haltbarmachungsverfahren der Konservenindustrie außer Sterilisieren beruhen darauf, daß das Wachstum der Mikroorganismen im und auf dem Lebensmittel unterdrückt wird. Gerade hierbei gewinnen Phytonzide an Bedeutung. Wie bereits erwähnt, sind es Stoffe, die in der Pflanze gebildet und wirksam werden und das Wachstum der Mikroorganismen unterdrücken bzw. vernichten.

In diesem Zusammenhang hebt sich das Problem heraus, die Bildung der Phytonzide unter dem Einfluß verschiedener Außenfaktoren kennenzulernen.

In der vorliegenden Arbeit werden folgende Fragen behandelt:

1. Wirkung von Phytonziden unterschiedlicher Herkunft auf verschiedene Mikroorganismen,
2. Einfluß von Sortenwahl und Anbaubedingungen der Pflanzen auf die Phytonzid-Bildung,
3. Bedeutung der Phytonzide für die Lagerungsfähigkeit von Gemüse.

II. MATERIAL UND METHODEN

A. Pflanzen

In folgenden 16 Gemüsen wurde das Vorkommen von Phytonziden untersucht:

Möhre, Kartoffel, Rote Beete, Paprika, Sellerie, Tomate (reif und unreif), Gurke, Aubergine, Bohne (grün), Blumenkohl, Weißkohl, Rettich, Merrettich, Knoblauch, Zwiebel, Porree (Tab. 2).

Blumenkohl und Porree wurden vom Institut für Gemüsebau, T.U. Hannover, zur Verfügung gestellt. Die Proben entstammten einem Anbauversuch mit gestaffelter Stickstoffdüngung

	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄
			kg N/ha		
Blumenkohl	0	50	150	300	400
Porree	0	120	180	240	-

Mehrere Zwiebelsorten standen zur Verfügung:

- 19 Sorten aus dem Inst.f.Gemüsebau, T.U.München (Freising-Weihenstephan)
- 10 Sorten von dem Hess. Landesamt f. Landwirtschaft, Dezernatsgruppe VI Frankfurt,
- 6 Sorten aus dem Institut für Gemüsebau d. Hess. Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau Geisenheim.

Alle anderen Gemüsesorten wurden im Einzelhandel (Wochenmarkt Giessen) besorgt.

B. Nachweis der Phytonzide

1. im Lochtest

Der Lochtest ist eine bewährte Methode zur Prüfung der antimikrobiellen Wirkung verschiedener Pflanzenextrakte. Hierbei wird der zu prüfende Extrakt in ein Loch gegeben, das aus dem

mit dem Testorganismus beimpften Nähragar ausgestanzt war. Der wirksame Extrakt diffundiert in den Agar und ruft im positiven Fall eine Zone mit vermindertem oder fehlendem Mikroorganismenwachstum hervor. Eine antimikrobielle Wirkung wird mit der Hemmzone in mm ausgedrückt. Das Ausmessen der Hemmzone erfolgt mit einem Zonenablesegerät oder, falls nicht vorhanden, mit einem Lineal (LITTLE & GRUBAUGH 1946, MA & FONTAINE 1948, FREERKSEN & BÖNICKE 1951, WINTER & WILLEKE 1951a, KESSLER 1955, FERENCZY 1956, NAIMIE 1964, GAL 1964, BONFERT & BERRANG 1969, ZAYED et al. 1971 und RAMADAN et al. 1972a).

Bei der Methode wird der Testorganismus entweder auf die Nährbodenoberfläche geimpft, oder man impft ihn in den noch flüssigen Nährboden, bevor dieser in die Petrischale gegossen wird (PICHNARCIK et al. 1969).

1.1 Nährböden

Als Nährböden wurden entsprechend der verwendeten Testorganismen Standard I - Nähragar (Merck), Standard II - Nähragar (Merck) bzw. Malzagar verwendet. Zusammensetzung der Nährmedien siehe Anhang.

Für die Herstellung von Impfmateriel wurden die Testorganismen in flüssigen Nährmedien kultiviert (Standard I- bzw. II-Nährbouillon).

1.2 Testorganismen

Als Testorganismen wurden eine große Zahl von Bakterien und Pilzen der verschiedensten systematischen Stellung als Reinkulturen verwendet (s. Anhang Tab. 28, 30).

Weiterhin wurden einige Pilze in die Versuche mit einbezogen, die die Zwiebel infiziert hatten und als Sporen in der Schale lokalisiert waren (s. Anhang Tab. 29). Die Isolierung erfolg-

te von angefaulten und auch von gesunden Zwiebeln, indem die Zwiebelschalen zerkleinert und auf den Nährboden (Malzagar) gestreut wurden.

Um das notwendige Impfmateriel für die Testreihen herzustellen, wurden die Bakterien- bzw. Pilzreinkulturen in mehreren Passagen von je 24 Stunden auf flüssigen Nährmedien (Medium No. 1, 3, 5, Zusammensetzung s. Anhang) angereichert. Die Beimpfung des Test-Nährbodens erfolgte so, daß der Testorganismus in einer Verdünnung von 1 : 150 vorlag (ERICSSON 1960). Für Bakterien betrugen die Anreicherungskulturen jeweils 5 ml in Röhrchen, für Pilze 20 ml in Erlenmeyer-Kolben.

1.3 Versuchsanordnung

Zu 15 ml noch flüssigen Nähragars wurden bei 45° - 50°C 0,1 ml Flüssigkeitskultur des Teststammes zugegeben. Die Beimpfung erfolgte also im Verhältnis 1 : 150. Diese Mischung wurde in sterile Petrischalen gegossen. Nach dem Erstarren des Agars wurde aus der Mitte der Agarplatte mit Hilfe eines sterilen Korkbohrers ein Loch von 12 mm Durchmesser ausgestanzt und 0,2 ccm des zu testenden frischen Pflanzenpreßsaftes hineinpipettiert. Bevor die Platten bebrütet wurden, wurden sie zwei Stunden bei 4°C gehalten, um während der Diffusion von antimikrobiellen Stoffen im Agar das Wachstum des Testorganismus zu verlangsamen (ERICSSON 1960). Die Bebrütung erfolgte bei den Temperaturen, die je nach Art der Testorganismen als optimal bekannt waren. Nach 36stündiger Bebrütungszeit wurde die Wirkung abgelesen. Gemessen wurde die Zone in mm, die vom Rand des ausgestanzten Loches an frei vom Wachstum, ungetrübt und klar durchsichtig war. Diese Zone wird als Hemmzone bezeichnet.

2. Nachweis der Phytonzide durch Keimzahlbestimmung

Bei dieser Methode wurde die abtötende und hemmende Wirkung der Pflanzenextrakte auf eine Mischflora aus Lebensmittel, Boden und Gemüse getestet und nach der Zahl der Keime beurteilt (WINTER & WILLEKE 1951b, AL-DELAIFY & ALI 1970, LANGENFELD 1970).

2.1 Versuchsmaterial

Als Frischpreßsäfte dienten Extrakte von Paprika, Tomaten, Möhren und Zwiebeln. Diese wurden unter sterilen Bedingungen hergestellt und mit einer Bodensuspension beimpft, bzw. unter unsterilen Bedingungen ausgepreßt. Um sterilen Saft zu gewinnen, wurden die Gemüsearten erst mit Leitungswasser dann mit 94 Vol. %igem Alkohol gewaschen. Die Proben wurden mit einem sterilen Messer durchgeschnitten, die Schnittfläche wurde abgeflammt. Das innere Gewebe des Gemüses wurde herausgenommen und im sterilen Mixgerät (Typ Waring commercial blender) zerkleinert. Das homogenisierte Gewebe wurde unter sterilen Bedingungen in einem Perlonsäckchen in einer Saftpresse gepreßt.

Säfte wurden nach der Koch'schen Plattengußmethode auf Sterilität geprüft. Diese Tests verliefen positiv, d. h. auf den Platten entwickelte sich kein Wachstum.

Bei der Gewinnung der unsterilen Säfte wurden die Proben nicht mit Alkohol abgewaschen, sondern die ganze Frucht wurde im Mixgerät zerkleinert und mit ihrer Schale ausgepreßt.

Außerdem wurden einige handelsübliche Salat-Fertiggerichte in den Versuch einbezogen (Kartoffel-, Hering- und Eiersalat).

2.2 Nährböden

Für die Keimzahlbestimmung in Pflanzensäften wurde wiederum Standard-I-Nähragar (Merck) (Medium No. 2, Zusammensetzung s. Anhang) verwendet. Für die Keimzahlbestimmung in Salaten kamen fünf verschiedene Selektiv-Nährböden zur Anwendung:

Standard Keimzählagar für Gesamtkeimzahl (LUFA, Methodenbuch Band VI, 1970), SPS-Agar für Clostridien (ANGELOTTI et al. 1962), Mannit-Kochsalz-Phenolrotagar für Staphylococcen (CHAPMAN 1945, Am. Publ. Health. Assoc. 1958), APT-Agar für Lactobacillen (EVANS & NIVEN 1951), GSP-Agar für Enterobacteriaceen, Pseudomonaden und Aeromonaden (KIELWEIN 1969) (Zusammensetzung der Nährmedien s. Anhang).

2.3 Versuchsanordnung

Gemüsesäfte, die unter sterilen Bedingungen ausgepreßt worden waren, wurden mit 1 ml einer 10 %iger Bodensuspension beimpft. Hier sollte die Wirkung der Phytonzide aus verschiedenen Gemüsearten auf Bodenmikroorganismen geprüft werden. Bei anderen Säften, die unter unsterilen Bedingungen gepreßt worden waren, wurde keine zusätzliche Beimpfung durchgeführt. In Säften wurde unmittelbar nach dem Pressen, und nach einer Aufbewahrung über 24 Stunden bei 20°C die Keimzahl bestimmt.

Bei den Salaten wurde die Wirkung der Phytonzide aus Zwiebel auf die Lebensmittelflora getestet. Den Salaten wurde 20 % Zwiebel als Saft bzw. in geschnittener Form zugesetzt. Dabei diente als Kontrolle eine Probe ohne Zwiebelzusatz. Proben wurden einmal bei 4°C (Kühlschranktemperatur), zum anderen bei 20°C (Zimmertemperatur) aufgehoben. In den Proben, die bei 4°C aufgehoben wurden, wurde am Anfang, nach 3 und nach 7 Tagen die Keimzahl bestimmt. In den anderen Proben, die bei 20°C aufgehoben wurden, wurde am Anfang, nach 24 Stunden und nach 72 Stunden die Keimzahl bestimmt.

Die Keimzählung wurde nach der Koch'schen Plattengußmethode durchgeführt.

C. Untersuchung der flüchtigen Bestandteile mit der Gastestmethode

Dies ist eine Methode zur Prüfung der Wirkung von flüchtigen Bestandteilen der Phytonzide auf das Wachstum von Mikroorganismen (WINTER & WILLEKE 1951c, WECHSELBERG 1958, WEILLER & SCHUPHAN 1967). In den eigenen Versuchen wurden Petrischalen, Weckgläser und Exsikkatoren verwendet. Die Wirkung der flüchtigen Bestandteile von Phytonziden wurde durch das Auftreten und die Wachstumsintensität des Testorganismus beurteilt. Als Kontrolle dienten Platten ohne Testsubstanz, die Inkubationszeit betrug 24 Stunden.

1. Versuchsmaterial

Hierfür wurde Zwiebel als Versuchsmaterial genommen. Nährboden war Standard II-Nähragar (Merck) (Medium Nr. 4, Zusammensetzung s. Anhang).

2. Impfmateriäl

Eine 24 Stunden alte Bouillonkultur von Bacillus mycoides, die in isotonischer Lösung (Lösung No. 1, Zusammensetzung s. Anhang) 1 : 150 verdünnt war, diente als Impfmateriäl. Sein typisches Wachstum erleichterte das Beurteilen und Ablesen der Ergebnisse.

3. Versuchsanordnung

3.1 in Petrischalen

Da die Petrischalen luftdicht abgeschlossen sein müssen, wurden jeweils 2 untere bzw. 2 obere Teile zusammen verwendet. In die obere Hälfte wurden 15 ml Nähragar gefüllt und mit 0,05 ml Bakteriensuspension beimpft. Die Impfsuspension wurde auf den

Nährboden aufgetragen und mit einem Drigalski-Spatel gründlich verstrichen. In die untere Hälfte wurde die geriebene Zwiebelmasse gleichmäßige über den Boden der Petrischale verteilt. Die Kontaktflächen der Petrischalenhälften wurden mit Tesafilmstreifen luftdicht verschlossen und im Brutraum bei 25°C bebrütet. Der Rauminhalt der geschlossenen Petrischalen betrug nach Einfüllung des Nährbodens 98 ccm. Kontrollplatten enthielten keine Testsubstanz. Durch diese Anordnung konnten nur flüchtige Stoffe der Phytonzide an den Testorganismus gelangen. Einmal wurde die Menge der Testsubstanz konstant gehalten, und die Dauer der Einwirkung variiert. In einem anderen Versuch wurde die Dauer der Einwirkung konstant gehalten und die Menge der Testsubstanz variiert.

Um festzustellen, ob eine bakterizide oder bakteriostatische Wirkung der flüchtigen Bestandteile von Phytonziden aus Zwiebel vorliegt, wurden die Platten mit Nährboden nach der entsprechenden Einwirkungszeit vom unteren Teil mit dem Pflanzenmaterial getrennt und weiterbebrütet. Nach einwöchiger Bebrütung wurden Anwesenheit und Stärke des Wachstums vom Testorganismus mit Kontrollplatten verglichen und registriert.

3.2 in Weckgläsern

In Weckgläsern, die sonst zur CO₂-Bestimmung nach der Methode Isermeyer benutzt wurden, wurde getestet, ob der Abstand zwischen dem Testorganismus und der Substanz bei der Wirksamkeit der flüchtigen Stoffe von Bedeutung sein würde. Auf den Boden der Gefäße wurde die breiige Zwiebelmasse in einer Petrischale eingebracht. Die beimpften Platten wurden in unterschiedlichen Abständen von der Testsubstanz in dem Gefäß so aufgehängt, daß die Agarschicht den flüchtigen Stoffen ausgesetzt war. Die Abstände betrugen 8, 13 und 18 cm. Jedes Gefäß enthielt 20 g breiige Zwiebelmasse für das Volumen

von 1640 ccm. Nach 24stündiger Einwirkungszeit wurden die Platten aus den Gefäßen herausgenommen und weiter bebrütet. Nach 1-wöchiger Bebrütung wurden die Anwesenheit und Stärke des Wachstums vom Testorganismus in Testplatten mit Kontrollplatten verglichen und registriert.

3.3 in Exsikkatoren

Die Wirkung der flüchtigen Bestandteile der Phytonzide aus Zwiebel auf Luftkeime wurde in Exsikkatoren getestet. In einen 5 l-Exsikkator wurden vier mit Nährboden gegossene Platten gestellt, eine 5. Platte enthielt 35 g Zwiebelbrei. Die Platten standen 24 Stunden in Exsikkatoren, danach wurden sie herausgenommen und 1 Woche bebrütet.

Es wurden die Keime gezählt, die in den Platten zum Wachstum kamen und mit den Keimzahlen verglichen, die sich in einem anderen Exsikkator ohne Zwiebelbrei entwickelt hatten.

III. ERGEBNISSE

A. Abhängigkeit der Bildung von Phytonziden

Da die Phytonzide als Folgen der Lebensfunktionen von Pflanzen gebildet werden, werden sie während ihres Aufbaues von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Diese Faktoren sind Alter, Bewässerung, Düngung, Licht, Bodentyp, Klima u. ä. Bedingungen.

Bildung von Phytonziden in Abhängigkeit

1. von Alter

Um die Frage zu beantworten, ob die Bildung der Phytonzide von Alter der Pflanze abhängig ist, wurden in Mitscherlich-Gefäßen Zwiebeln (Stuttgarter Riesen) angebaut und zu den bestimmten Zeitpunkten auf ihren Phytonzidgehalt untersucht. Boden war normaler Gartenboden, der im Verhältnis von 1 : 4 mit Torf gemischt war.

Tabelle 3

Bildung von Phytonziden durch Zwiebel in Abhängigkeit von Alter

(Hemmzone in mm gegenüber Testorganismen)

Alter	Staph. aureus	Esch. coli	Bac. cereus	Sacch. cerevisiae
1 Monat	2,0	-	3,0	2,5
2 Monate	3,2	-	4,0	4,5
3 Monate	4,0	-	4,8	5,4
4 Monate	4,5	-	6,5	7,0
5 Monate	5,5	-	8,0	8,5

Gegenüber den empfindlichen Testorganismen Staphylococcus aureus, Bacillus cereus und Saccharomyces cerevisiae nahm

die Phytonzid-Wirkung im Verlauf des Wachstums der Zwiebeln zu. Die monatliche Zunahme war ziemlich gleichmäßig (Tab. 3; s. Anhang Abb. 1). Phytonzide, wie auch viele andere Pflanzeninhaltsstoffe, sind assimilationsabhängig, entsprechend nimmt die Menge mit der Entwicklung der Pflanze zu.

2. von Anbaubedingungen

Die äußeren Faktoren werden auch als Standortbedingungen bezeichnet. Hierzu ist zu bemerken, daß die zwei Begriffe Standortbedingungen und Anbaubedingungen eine unterschiedliche Bedeutung haben. Mit dem Begriff "Standortbedingungen" werden die Bedingungen bezeichnet, die von Natur aus vorliegen und vom Menschen nicht beeinflußt werden können. Dazu gehören Bodenart, geographische Lage und Klima des Standortes, Temperatur, Beleuchtung u. a. Unter dem Begriff "Anbaubedingungen" werden die Faktoren zusammengefaßt, die vom Menschen gesteuert werden. Das sind Düngung, Bewässerung, Bodenbelüftung u. ä. Sowohl Standort- als auch Anbaubedingungen üben auf die Menge der Phytonzide einen erheblichen Einfluß aus. Dies wurde durch einen Versuch mit Blumenkohl, Porree und Zwiebelsorten bestätigt. Blumenkohl und Porree waren mit unterschiedlichen Stickstoffmengen gedüngt worden (Tab. 5 und Tab. 6). Die Zwiebelsorten kamen von unterschiedlichen Standorten (Tab. 4). Als Teststamm in der Lochtestmethode diente Bacillus mycoides.

Tabelle 4

Bildung von Phytonziden durch Zwiebel in Abhängigkeit von Standort und Sorte

Sorte	Standort			
	Weihenstephan	Nieder- bayern	Frankfurt	Geisenheim
Hemmzone in mm gegenüber <i>Bacillus mycoides</i>				
Juwarund	10,4	8,6	10,5	8,9
Topaz	8,6	6,8	.	.
Stuttgarter Riesen	8,3	.	8,8	10,0
Garnet	8,0	7,5	.	.
Rocket	8,0	7,0	.	.
Pronto	7,0	.	.	.
Granada	.	7,9	11,8	.
White Knight	.	.	12,5	.
Allround	.	.	9,8	.
Primodoro	8,0	.	8,0	7,0
Ontario	.	.	7,6	6,0
Sturon	.	.	10,3	8,0

Die Phytonzid-Wirkung der gleichen Sorte variierte je nach Standort recht erheblich (Tab. 4). Die hier verwendeten Zwiebelsorten wurden mehr oder weniger unter gleichen Bedingungen angebaut. Beim Anbau wurde eine gewöhnliche N-, P-, K-Gabe gegeben, in einigen Fällen erfolgte eine zusätzliche Bewässerung. Trotz der gleichen Anbaubedingungen zeigten die Sorten aus verschiedenen Standorten eine unterschiedliche Wirkung. Dies besagt, daß die Standortbedingungen auf die Bildung von Phytonziden einen erheblichen Einfluß haben. Hierzu gehören die Besonderheiten der Bodenzusammensetzung (Lehm-, Sand- und humoser Boden), Witterung, Klima und Strahlung.

Phytonzide sind Stoffwechselprodukte in der Pflanze. Der Stoffwechsel einer Pflanze wird weitgehend durch äußere Faktoren beeinflusst. Es ist daher zu erwarten, daß sich die Menge von Phytonziden im Zusammenhang mit dem Stoffwechsel einer Pflanze verändert.

Die Stickstoffdüngung übte auch einen Einfluß auf die Bildung von Phytonziden aus (s. Tab. 5 und Tab. 6).

Tabelle 5

Bildung von Phytonziden durch Blumenkohl in Abhängigkeit von der N-Düngung

N-Düngung kg N/ha	Hemmzone in mm	
	Staph.aureus	Bac. mycoides
0	4,5	5,5
50	6,0	7,0
150	6,5	7,5
300	7,0	8,0
400	7,5	9,0

Tabelle 6

Bildung von Phytonziden durch Porree in Abhängigkeit von der N-Düngung

N-Düngung kg N/ha	Hemmzone in mm	
	Staph. aureus	Bac. mycoides
0	3,5	7,0
120	5,0	9,0
180	6,5	10,0
240	7,0	10,5

Sowohl in Blumenkohl als auch in Porree steigert N-Düngung die Menge der Phytonzide erheblich, besonders bei den Anfangs-

gaben. Das ist damit zu erklären, daß die Stoffwechselreaktionen durch jeden in den Körper gelangten Stoff sehr oft in der einen oder anderen Richtung anfangs stark beeinflusst werden. Bei den höheren N-Gaben bleibt eine Anstiegstendenz des Phytonzidgehalts, wenn auch abnehmend, erhalten. Insgesamt nimmt die Phytonzid-Wirkung mit steigender N-Menge zu.

Die Phytonzide bei Cruciferen sind in erster Linie Senföle. Senföle kommen in der Regel nicht frei in der Pflanze vor, sondern stellen enzymatische Spaltprodukte der Senfölglicoside dar. Sowohl Senfölglicoside als auch Senföle sind stickstoffhaltige Verbindungen. Je mehr Stickstoff die Pflanze bekommt, um so mehr Senfölglicoside bzw. Senföle werden in der Pflanze gebildet. Deswegen steigt die Phytonzid-Wirkung von Blumenkohl mit zunehmender N-Menge. Das zeigte sich bei beiden Teststämmen.

Bei Lauchgewächsen beruht die Phytonzid-Wirkung auf den Lauchölen. Lauchöle sind Alkylsulfide. Die Bezeichnung "Lauchöle" schließt den ganzen Komplex von Sulfiden und Polysulfiden ein, welche die arteigenen ätherischen Öle verschiedener Alliumarten aufbauen. Ausgangssubstanzen, aus denen die Lauchöle enzymatisch abgespalten werden, haben ebenfalls Stickstoff in ihrem Molekül. Das gleiche ist auch bei Allium-Arten der Fall. Je mehr Stickstoff diese Pflanzen bekommen, desto mehr Ausgangssubstanzen bzw. Lauchöle werden erzeugt.

3. von Sorte

Es ist allgemein bekannt, daß verschiedene Zwiebelsorten verschieden lang und gut lagerfähig sind. Wenn wir eine Beziehung zwischen Phytonzid-Wirkung und Lagerfähigkeit postulieren, müßte auch eine Sortenabhängigkeit erkennbar sein.

Um einen Sorteneinfluß zu untersuchen, wurde deshalb ein Versuch mit Zwiebelsorten durchgeführt, die am gleichen Standort

unter gleichen Bedingungen angebaut worden waren (Tab. 4).

Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, wird die Phytonzidbildung auch durch die Sorte weitgehend beeinflusst. Die Zwiebel-sorten von dem gleichen Standort zeigten eine deutlich unterschiedliche Phytonzid-Wirkung. Das besagt, daß die Phytonzidbildung durch die genetische Veranlagung bedingt ist, und von genetischen Faktoren (Genen) gesteuert wird.

B. Wirkung der Phytonzide

Wie bereits bei der Definition erwähnt, üben Phytonzide auf Mikroorganismen eine wachstumshemmende bzw. abtötende Wirkung aus. Eine derartige Wirkung wurde speziell bei Zwiebel-Phytonziden auf Reinkulturen von Bakterien und Pilzen untersucht, wie auch auf Mischkulturen aus Lebensmittel und Boden.

Phytonzid-Wirkung

1. auf Reinkulturen von Bakterien

Als antimikrobielles Spektrum bezeichnet man die Hemmwirkung eines Stoffes gegen eine Reihe verschiedener Testorganismen.

Um das antimikrobielle Spektrum der Phytonzide aus Zwiebel zu bestimmen, wurde die Wirkung auf Mikroorganismen verschiedener systematischer Stellung getestet. Die Testorganismen stammten aus den Kulturensammlungen des Instituts für landwirtschaftliche Mikrobiologie Giessen, des Hygiene-Instituts und Medizinal-Untersuchungsamts der Universität Marburg, des Instituts für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde, Abteilung Milch, Fische, Eier, Giessen, und des Instituts für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere, Giessen.

Neben den hierfür üblichen Testorganismen wurden besonders auch technisch interessante Bakterienarten in die Untersuchung einbezogen (s. Anhang Tab. 28). Folgende Überlegungen führten zu dieser Auswahl:

Micrococcen sind weitverbreitet, besonders auch in Lebensmitteln, denen Zwiebeln zugesetzt werden.

Milchsäurebakterien spielen u. a. bei der Herstellung von Sauerkraut eine Rolle, das oft mit Zwiebeln angerichtet wird.

Sporenbildende Bacillen und Enterobakterien werden oft als Indikatoren für eine vorschriftsmäßige Sterilisierung und Genießbarkeit der Lebensmittel herangezogen.

Azotobacter und Rhizobium, N-bindende Bodenbakterien, gelten als empfindliche Testorganismen. Da die Zwiebel ein unterirdisch wachsendes Organ ist und die Pflanzenrückstände meist im Boden abgebaut werden, schien es interessant und notwendig, auch typische Bodenmikroorganismen in diese Testreihe einzubeziehen.

Pseudomonaden sind ubiquitär und zeichnen sich durch besondere physiologische Abbaufähigkeiten aus, einige Arten sind pflanzenpathogen.

Zur Abrundung des Spektrums wurden noch weitere Mikroorganismengruppen (Propionibakterien, Streptomyceten, Corynebakterien und Mycobacterien) in den Versuch einbezogen.

Außerdem sollte ein Unterschied in der Empfindlichkeit zwischen Grampositiven und Gramnegativen bzw. sporenbildenden und nichtsporenbildenden Arten herausgestellt werden (s. Anhang Tab. 28).

Als Ergebnis läßt sich feststellen, daß bei Streptomyceten die größte Hemmzone gemessen wurde. Grampositive Mikroorganismen sind empfindlicher als gramnegative, das gleiche wurde auch schon bei der Untersuchung von Antibiotica beobachtet. Gegenüber Enterobakterien war keine Wirkung erkennbar, Pseudomonaden waren ebenfalls resistent. Azotobacter vinelandii und Agrobacterium radiobacter zeigten sich ziemlich unempfindlich, hier war nur eine geringe Hemmung zu registrieren. Dagegen waren die anderen Rhizobienarten und

Azotobacter chroococcum recht empfindlich. Dies kann zu einer Hemmung bzw. Schwächung der N-Fixierung im Boden führen.

Andere Organismen verhielten sich unterschiedlich. Ein Unterschied in der Phytonzid-Wirkung auf Sporenbildende (Bacillaceae) und Nicht-Sporenbildende konnte nicht nachgewiesen werden.

2. auf Reinkulturen von Pilzen

Zur Bestimmung der Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf Pilze wurden in den Versuch die Pilzarten einbezogen, die in Erde und im Lagerraum vorkommen, Zwiebeln befallen und hier eine Fäulnis hervorrufen.

Acht Pilzarten wurden von gesunden und angefaulten Zwiebeln isoliert und bestimmt (s. Anhang Tab. 29). Daneben wurden Versuche mit Pilzarten durchgeführt, die aus der Kultursammlung des hiesigen Instituts entnommen worden waren (s. Anhang Tab. 30).

Die Versuche wurden in der gleichen Weise wie mit Bakterien durchgeführt. Die Pilze wurden 8 Tage in 20 ml Malzbouillon (Medium No. 5, Zusammensetzung s. Anhang) bebrütet, Impfmenge betrug pro Röhrchen je nach Art der Pilze 0,1 bis 0,5 ml. Die Impfkultur wurde dem noch flüssigen Nährboden (45° - 50° C) zugesetzt und mit dem Nährboden gründlich vermischt, bevor er in die Platte gegossen wurde.

Unter den Eigenisolierungen waren nur die beiden Fusarium-arten und Gliocladium sp. dem Zwiebelsaft gegenüber empfindlich. Diese waren in Sporenform von den Schalen gesunder Zwiebeln isoliert worden. Wegen der Phytozid-Wirkung konnten die Sporen nicht auskeimen.

Es zeigte sich deutlich, daß Fäulnis der Zwiebeln von Penicilliumarten, Botrytis und Mucor sp. verursacht wurde, die von befallenen und angefaulten Zwiebeln isoliert worden

waren. Diese Pilze wurden in ihrem Wachstum nicht von dem Zwiebel-Phytonzid beeinflusst, sie konnten sich daher üppig entwickeln und eine starke Fäulnis hervorrufen (s. Anhang Tab. 29).

Auch bei anderen Aspergillus- und Penicilliumarten, die in der Literatur als Lagerfäuleerreger beschrieben werden, zeigte sich nur eine geringe Hemmwirkung (s. Anhang Tab. 30). Alle anderen Pilzarten, abgesehen von Phytophthora cactorum, waren dem Zwiebelsaft gegenüber empfindlich (s. Anhang Tab. 30).

3. auf Mischkulturen aus Boden, Lebensmittel und von Gemüse

Zur Bestimmung der Wirkung von Gemüsesäften auf die Bodenmikroflora wurde je Gemüseart 20 ml steriler Saft gewonnen. Diese Menge wurde mit 1 ml Bodensuspension ($20 : 180 = 10^{-1}$) beimpft. Als Kontrolle dienten 20 ml steriles Leitungswasser. In den Säften wurde gleich nach der Beimpfung und nach 24 Stunden die Keimzahl bestimmt (Tab. 7).

Tabelle 7

Wirkung der Gemüsesäfte auf die Bodenmikroflora

Saft aus	Anfangskeimzahl		Keimzahl nach 24 Std.	
	Keime/ml Saft	Abt.R.%	Keime/ml Saft	Abt.R.%
Kontrolle	220	-	200	9,1
Möhre	220	-	500	127,3 ^x
Zwiebel	210	4,5	80	61,9
Paprika	170	22,7	140	17,6
Tomate	130	40,9	90	30,8
x Vermehrungsrate				

Außer Möhrensaft zeigten die anderen Säfte zu Versuchsbeginn wie auch nach 24 Stunden eine keimhemmende bzw. keimabtötende

Wirkung auf die Bodenmikroorganismen. Die Abtötungsrate (Abt. R.) betrug schon bei der Anfangskeimzahl für Tomatensaft 40,9 %, Paprikasaft 22,7 % und Zwiebelsaft 4,5 %. Diese ersten Zahlen besagen, daß die Säfte auf die Bodenmikroflora eine schnelle Wirkung ausübten. Nach 24 Stunden betrugen diese Werte für Zwiebelsaft 61,9 %, Tomatensaft 30,8 % und Paprikasaft 17,6 %.

Im Möhrensaft dagegen kam es zu einer Vermehrungsrate von 127,3 %. Das Ergebnis entsprach dem im Lochtest erzielten, bei dem ebenfalls bei Möhre keine Hemmwirkung auftrat (Tab. 2).

Wie von den Prozentsätzen der Abtötungsrate zu entnehmen ist, übten Tomaten- und Paprikasaft auf die Bodenmikroorganismen schon am Anfang eine große Wirkung aus. Innerhalb 24 Stunden war ihre Wirkung nicht mehr so groß wie am Anfang. Dem gegenüber war dieser Wert nach 24 Stunden für Zwiebelsaft erheblich (61,9 %). Zwiebelsaft zeigte hier eine Dauerwirkung. Wenn wir uns nach der Trockensubstanz richten, kann hier gesagt werden, daß die Trockensubstanzmenge für die Intensität der Wirkung eine große Bedeutung hat. Wie z. B. auf Tab. 7 zu sehen ist, war die Wirkung von Tomatensaft stärker als die des Paprikasaftes am Anfang und nach 24 Stunden, wobei Tomatensaft mehr Trockensubstanz als Paprikasaft enthält.

Um die Wirkung der Phytonzide aus Gemüsesäften auf die anhaftende Mikroflora von Gemüse zu prüfen, wurde aus Zwiebel, Paprika, Tomate und Möhre unter unsterilen Bedingungen Saft gepreßt, in dem gleich nach der Gewinnung des Saftes und nach 24 Stunden die Keimzahl bestimmt wurde (Tab. 8).

Tabelle 8

Wirkung der Gemüsesäfte auf die eigene Mikroflora

Saft aus	Anfangskeimzahl Keime/ml Saft	Keimzahl nach 24 Std. Keime/ml Saft	Abt.R. %
Zwiebel	2 200	1 200	45,5
Paprika	27 000	24 000	11,1
Tomate	460 000	380 000	17,4
Möhre	530 000	510 000	3,8

Auch hier zeigten die Säfte eine abtötende Wirkung auf die anhaftende Mikroflora von Gemüse. Die Abtötungsrate betrug für Zwiebelsaft 45,5 %, Tomatensaft 17,4 %, Paprikasaft 11,1 % und Möhrensaft 3,8 % (Tab. 8). Die Anfangskeimzahlen deuten darauf hin, daß sich die starke Phyttonzid-Wirkung schon bei der eigenen Mikroflora bemerkbar macht. Bei Zwiebel war die Anfangskeimzahl 2 200 ml Saft, demgegenüber betrugen die Werte bei Möhre 530 000 Keime/ml Saft, Tomate 460 000 Keime/ml Saft und Paprika 27 000 Keime/ml Saft (Tab. 8).

Zwiebel besitzt die geringste Eigenmikroflora, ihr folgen Tomate und Paprika. Möhre kann hier außer acht gelassen werden, da die Werte der Abtötungsrate innerhalb der Fehlergrenze liegen. Diese Beobachtungen bestätigen die Ergebnisse des vorigen Versuches (Tab. 7). In beiden Fällen war Zwiebelsaft der Wirksamste. Ihm folgten in der Wirksamkeit Tomaten- und Paprikasaft, wobei der letztere auf die eigene Mikroflora keine große Wirkung ausübte. Im Gegensatz zu Tomaten und Paprika muß bei Zwiebel die Phyttonzid-Wirkung schon auf der Schale bemerkbar sein, entweder treten wirksame Komponenten des Saftes aus der Zwiebel relativ leicht, evtl. als flüchtige Stoffe aus oder diese sind in den äußeren Schalen lokalisiert. Hierauf wird später (S. 46) eingegangen.

Es wurde die Wirkung von Phyttonziden aus Zwiebel auf die Gesamtmikroflora sowie die Anaeroben, Staphylococcen, Pseudo-

monaden, Lactobacillen und Aeromonaden in Kartoffel-, Hering- und Eiersalat untersucht (Tab. 9-14). In den ersten beiden Salaten konnten keine Clostridien, Enterobakterien und Aeromonaden nachgewiesen werden. Aus diesem Grund wurde im Eiersalat die Empfindlichkeit von Lactobacillen anstelle der von Anaeroben untersucht, hier waren auch keine Enterobakterien nachzuweisen (die absoluten Zahlen s. Anhang Tab. 31-36).

Bei der Keimzahlbestimmung in Salaten ergab sich, daß ein Zusatz von geschnittenen Zwiebeln bzw. Zwiebelsaft die Zahl der Anaeroben und Staphylococcen, sowie die Gesamtkeimzahl herabsetzte. Da antimikrobielle Stoffe in Saft aus den Zellen herausgelöst sind, war die Wirkung von Saft in manchen Fällen stärker als die bei geschnittenen Zwiebeln.

Wie von den Tabellen 9 - 14 zu entnehmen ist, waren Mannit-positive Staphylococcen empfindlicher als Mannit-negative. Das ist ein positives Zeichen dafür, daß Zwiebel-Phytonzide Mannit-positive Staphylococcen, die gewöhnlich pathogen sind, besonders stark unterdrücken.

Zwischen der Phytonzid-Wirkung und den Lagerungstemperaturen konnte keine Beziehung nachgewiesen werden.

In mehreren Fällen bei Pseudomonaden und Lactobacillen, gelegentlich auch bei Aeromonaden und Staphylococcen, war eine Wachstumsförderung in den Proben festzustellen, die Zwiebelstücke bzw. Zwiebelsaft enthielten. Die alte Küchenregel, Salate mit Zwiebelzusatz nicht aufzuheben, sondern sofort zu verzehren, findet in dieser Beobachtung eine Erklärung.

Tabelle 9

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Kartoffelsalats (bei 4°C aufgehoben)

Zeit- abstände	Mikro- organismen	Zwiebelzusatz			
		Stücke		Stück	
		Hemmung	Förderung	Hemmung	Förderung
		in %	in %	in %	in %
am Anfang	Gesamt	85,5	-	86,1	-
nach 3 Tg.	"	-	11,6	29,2	-
nach 7 "	"	20,7	-	29,7	-
am Anfang	Anaeroben	32,5	-	36,4	-
nach 3 Tg.	"	28,9	-	8,9	-
nach 7 "	"	32,3	-	24,5	-
	Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	45,4	-	52,6	-
	" -negativ	-	11,5	4,6	-
nach 3 Tg.	Mannit-positiv	53,8	-	53,9	-
	" -negativ	-	11,6	13,5	-
nach 7 Tg.	Mannit-positiv	88,8	-	86,0	-
	" -negativ	74,9	-	72,2	-
am Anfang	Pseudomonaden	-	11,5	-	122,6
nach 3 Tg.	"	-	11,5	-	11,3
nach 7 Tg.	"	25,7	-	25,8	-

Tabelle 10

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Kartoffelsalats (bei 20°C aufgehoben)

Zeit- abstände	Mikro- organismen	Zwiebelzusatz			
		Stücke		Saft	
		Hemmung	Förderung	Hemmung	Förderung
		in %		in %	
am Anfang	Gesamt	85,5	-	86,1	-
nach 1 Tg.	"	8,7	-	44,4	-
nach 3 "	"	20,7	-	29,7	-
am Anfang	Anaeroben	32,5	-	36,4	-
nach 1 Tg.	"	18,9	-	3,9	-
nach 3 "	"	17,5	-	-	35,5
	Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	45,4	-	52,6	-
	" -negativ	-	11,5	4,6	-
nach 1 Tg.	Mannit-positiv	42,1	-	58,8	-
	" -negativ	10,8	-	33,2	-
nach 3 Tg.	Mannit-positiv	87,6	-	91,3	-
	" -negativ	74,9	-	72,2	-
am Anfang	Pseudomonaden	-	11,5	-	11,5
nach 1 Tg.	"	25,7	-	25,8	-
nach 3 "	"	44,2	-	62,9	-

Tabelle 11

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Heringsalats (bei 4°C aufgehoben)

Zeit- abstände	Mikro- organismen	Zwiebelzusatz			
		Stücke		Saft	
		Hemmung in %	Förderung	Hemmung in %	Förderung
am Anfang	Gesamt	5,7	-	27,9	-
nach 3 Tg.	"	17,6	-	34,1	-
nach 7 "	"	9,5	-	11,8	-
am Anfang	Anaeroben	48,6	-	77,8	-
nach 3 Tg.	"	52,1	-	73,4	-
nach 7 "	"	49,4	-	86,1	-
	Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	-	11,3	28,8	-
	" -negativ	44,4	-	46,3	-
nach 3 Tg.	Mannit-positiv	16,8	-	46,7	-
	" -negativ	-	9,3	46,3	-
nach 7 Tg.	Mannit-positiv	50,6	-	52,7	-
	" -negativ	63,4	-	82,0	-
am Anfang	Pseudomonaden	-	10,4	-	6,7
nach 3 Tg.	"	-	-	3,4	-
nach 7 "	"	-	10,6	-	77,6

Tabelle 12

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Heringsalats (bei 20°C aufgehoben)

Zeit- abstände	Mikro- organismen	Zwiebelzusatz		Saft	
		Stücke Hemmung in %	Förderung in %	Hemmung in %	Förderung in %
am Anfang	Gesamt	5,7	-	27,9	-
nach 1 Tg.	"	40,7	-	40,9	-
nach 3 "	"	6,4	-	48,3	-
am Anfang	Anaeroben	37,5	-	65,2	-
nach 1 Tg.	"	32,0	-	54,9	-
nach 3 "	"	49,4	-	80,1	-
	Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	-	11,3	28,8	-
	" -negativ	44,4	-	46,3	-
nach 1 Tg.	Mannit-positiv	11,2	-	57,5	-
	" -negativ	-	9,3	46,3	-
nach 3 Tg.	Mannit-positiv	88,9	-	93,8	-
	" -negativ	44,8	-	78,7	-
am Anfang	Pseudomonaden	-	10,4	-	6,7
nach 1 Tg.	"	-	10,6	64,4	-
nach 3 "	"	39,1	-	23,9	-

Tabelle 13

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Eiersalats (bei 4°C aufgehoben)

Zeit- abstände	Mikro- organismen	Zwiebelzusatz			
		Stücke		Saft	
		Hemmung	Förderung	Hemmung	Förderung
		in %		in %	
am Anfang	Gesamt	79,3	-	82,2	-
nach 3 Tg.	"	80,1	-	68,7	-
nach 7 "	"	30,9	-	56,5	-
am Anfang	Lactobacillen	20,6	-	38,1	-
nach 3 Tg.	"	-	53,3	-	42,5
nach 7 "	"	-	45,4	-	54,5
	Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	20,5	-	49,2	-
	" -negativ	-	19,2	14,2	-
nach 3 Tg.	Mannit-positiv	4,6	-	-	14,4
	" -negativ	31,4	-	34,6	-
nach 7 Tg.	Mannit-positiv	17,5	-	3,2	-
	" -negativ	-	4,3	14,2	-
am Anfang	Pseudomonaden	1,0	-	23,7	-
	Aeromonaden	-	19,2	54,3	-
nach 3 Tg.	Pseudomonaden	-	49,0	4,8	-
	Aeromonaden	28,5	-	54,2	-
nach 7 Tg.	Pseudomonaden	-	12,2	26,0	-
	Aeromonaden	40,4	-	51,0	-

Tabelle 14

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Eiersalats (bei 20°C aufgehoben)

Zeit- abstände	Mikro- organismen	Zwiebelzusatz			
		Stücke		Stück	
		Hemmung	Förderung	Hemmung	Förderung
		in %		in %	
am Anfang	Gesamt	79,3	-	82,2	-
nach 1 Tg.	"	1,0	-	44,0	-
nach 3 "	"	29,0	-	27,2	-
am Anfang	Lactobacillen	20,5	-	38,0	-
nach 1 Tg.	"	-	18,9	10,0	-
nach 3 "	"	95,0	-	10,0	-
	Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	20,5	-	49,2	-
	" -negativ	-	19,2	14,2	-
nach 1 Tg.	Mannit-positiv	26,7	-	20,8	-
	" -negativ	10,6	-	14,2	-
nach 3 Tg.	Mannit-positiv	8,3	-	3,2	-
	" -negativ	-	49,0	114,4	-
am Anfang	Pseudomonaden	1,0	-	23,7	-
	Aeromonaden	-	19,2	54,3	-
nach 1 Tg.	Pseudomonaden	4,6	-	-	8,5
	Aeromonaden	-	43,1	-	37,3
nach 3 Tg.	Pseudomonaden	-	18,0	-	21,5
	Aeromonaden	40,4	-	18,3	-

C. Einflüsse auf die Wirksamkeit der Phytonzide

1. Temperatur

Um zu prüfen, ob und wie weit Phytonzide hitzebeständig sind, wurde Zwiebelsaft bei steigenden Temperaturen (30 - 121°C) jeweils 1 min (Tab. 15) erhitzt. In einem weiteren Versuch wurde Zwiebelsaft einer Temperatur von 80°C über einen verschieden langen Zeitraum (1 - 64 min) ausgesetzt (Tab. 16; s. Anhang Abb. 2). Danach wurde seine Phytonzid-Wirkung gegen Bacillus mycoides im Lochtest gemessen.

Tabelle 15

Wirksamkeit von Phytonziden in Zwiebelsaft nach der Erhitzung auf verschiedene Temperaturen

Kontrolle Zimmertemp.	Temperatur °C									
	ca. 20°C	30	40	50	60	70	80	90	100	121
Hemmzone in mm	10,0	10,5	10,1	9,6	8,4	7,4	5,1	3,4	1,3	-
Verlust der Hemmwirkung in %	-	-	-	4	16	26	49	66	87	100

Die steigende Temperatur übte auf die Wirksamkeit von Phytonziden aus Zwiebelsaft eine zerstörende Wirkung aus (Tab. 15). Bei Temperaturen bis zu 50°C blieb die Phytonzid-Wirkung konstant. Bei 30°C und 40°C stieg die Hemmwirkung sogar geringfügig an. Möglicherweise wurden die Phytonzide durch diese Temperaturen in ihrer Bildung oder Wirkung angeregt. Eine inaktivierende Wirkung machte sich erst bei 60°C bemerkbar, hier betrug der Verlust der Hemmwirkung 16 %. Dieser Wert stieg ab 70°C rasch an. Bei der Pasteurisierungstemperatur von 80°C verlor Zwiebelsaft die Hälfte seiner Phytonzid-Wirkung. Im Saft, der bei 100°C 1 min gekocht wurde, konnte nur

noch eine sehr geringe Hemmwirkung nachgewiesen werden, die bei dem Saft ganz ausblieb, der bei 121°C (1 Atü) 1 min erhitzt worden war (Tab. 15).

Die Wirkung der Temperatur von 80°C auf Phytonzide aus Zwiebel war in den ersten Minuten sehr stark (Tab. 16; s. Anhang Abb. 2).

Tabelle 16

Wirksamkeit von Phytonziden in Zwiebelsaft nach Hitzebehandlung bei 80°C

	Kontrolle Zimmertemp. ca. 20°C	8	16	32	64
Hemmzone in mm	10,0	4,0	2,9	2,1	1,8
Verlust der Hemmwirkung in %	-	60	71	79	82

Bereits in den ersten 8 Minuten gingen 60 % der Phytonzid-Wirkung verloren. Bei längerer Erhitzung nahm die Wirkung nicht mehr im gleichen Maße ab. In der graphischen Darstellung ist das deutlich zu erkennen (s. Anhang Abb. 2). Aus dem Grund sollte man Gemüse möglichst roh verzehren und es nur kurzzeitig erhitzen.

2. Bestrahlung

Um zu testen, ob eine UV- bzw. Sonnenbestrahlung die Wirksamkeit von Phytonziden beeinflusst, wurde Zwiebelsaft in Petrischalen UV- und Sonnenstrahlen ausgesetzt und nach unterschiedlichen Zeitintervallen auf seine Wirkung untersucht (Tab. 17; s. Anhang Abb. 3). Die Schichtdicke des Saftes in den Schalen betrug 3 mm. Der Wasserverlust des Saftes wurde während der Bestrahlung mit sterilem destillierten Wasser ausgeglichen, bevor der Versuch angesetzt wurde.

Als UV-Lichtquelle diente eine Lampe, Typ Sterisol-Brenner-Original Hanau, deren Strahlen $2537 \text{ \AA} = 253,7 \text{ m}\mu$ Wellenlänge betragen. Der Abstand zwischen der Lampe und dem Saft war 50 cm. Die Bestrahlung dauerte ununterbrochen 144 Stunden.

Die Sonnenbestrahlung dauerte 6 Tage, um tatsächliche Bestrahlung von 24 Stunden zu erzielen. Während der Zeit, in der kein Sonnenlicht schien, wurde die Probe in der geschlossenen Schale im Dunkeln bei 4°C aufgehoben.

Die Kontrolle stand bei diffusem Tageslicht.

Innerhalb 24 Stunden verlor der Zwiebelsaft durch UV-Licht mehr als die Hälfte seiner Phytonzid-Wirkung (Tab. 17; s. Anhang Abb. 3). Nach 48 Stunden betrug der Verlust der Hemmwirkung 72,8 %. Nach 144 Stunden war keine Wirksamkeit mehr festzustellen.

Tabelle 17

Wirksamkeit von Phytonziden in Zwiebelsaft nach Bestrahlung durch UV- und Sonnenlicht

Behandlung	Stunden						
	0	6	12	24	48	96	144
KONTROLLE							
Hemmzone in mm	10,0	9,5	9,0	7,5	7,0	6,0	5,0
Verlust der Hemmwirkung in %	-	5,0	10,0	25,0	30,0	40,0	50,0
UV-LICHT							
Hemmzone in mm	10,0	7,6	5,8	3,1	1,9	0,9	-
Verlust der Hemmwirkung in %	-	20,0	35,5	58,6	72,8	85,0	100,0
SONNENLICHT							
Hemmzone in mm	10,0	7,0	4,5	-			
Verlust der Hemmwirkung in %	-	26,3	50,0	100,0			

Dagegen wirkte Sonnenlicht noch stärker. Schon nach 24stündiger Bestrahlung war die gesamte Wirkung zerstört.

Es kann hier zur Bestrahlung allgemein gesagt werden, daß die ersten Stunden der Bestrahlung in jedem Falle stärker wirkte als eine spätere Strahlenbehandlung.

Bei der Kontrollprobe ging die Hälfte der Hemmwirkung innerhalb 144 Stunden verloren (Tab. 17). Obwohl die Kontrollprobe nicht behandelt wurde, ließ die Phytonzid-Wirkung nach. Wie in dieser Arbeit noch behandelt werden wird, bestehen Phytonzide von Zwiebel nicht nur aus flüssigen sondern auch noch aus flüchtigen Bestandteilen.

Der Verlust der Hemmstoff-Wirkung in der Kontrolle ist auf die flüchtigen Bestandteile zurückzuführen, die im Laufe der Zeit entweichen. Bei dem bestrahlten Saft kommt zusätzlich zu diesem Hemmstoffverlust noch die zerstörende Wirkung der Strahlen hinzu. Zu jedem Zeitpunkt ist der prozentuale Verlust der Hemmwirkung bei der Sonnenbestrahlung immer am stärksten.

3. Konzentration

Zur Bestimmung des Einflusses der Konzentration auf die Phytonzid-Wirkung wurden verschiedene Verdünnungen von Zwiebelsaft mit sterilem destillierten Wasser hergestellt und auf ihre Wirkung geprüft (Tab. 18).

Ein Verlust der Hemmwirkung war erst bei 20 %igem Saft zu erkennen (Tab. 18). Bei einer Konzentration von 11,1 % des Saftes ging die Hälfte der Hemmwirkung verloren. Während die Menge des Saftes sich nach der geometrischen Reihe verringerte, ließ die Wirksamkeit wesentlich langsamer nach. Bei einer Konzentration von 0,0154 ml Saft/ml Wasser zeigte Bacillus mycoides noch eine Hemmzone von 0,3 mm. In einer halblogarithmischen Aufzeichnung zeigte die Hemmwirkung eine gerade Linie (s. Anhang Abb. 4).

Tabelle 18

Wirksamkeit von Phytonziden in Zwiebelsaft verschiedener Konzentration

Verhältnis Saft:Wasser	1:0	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
Saft %	100	50	33,3	20	11,1	5,88	3,03	1,54	0,77
Reduzierung an Saft %	-	50	66,7	80	88,9	94,1	97	98,5	99,2
Hemmzone in mm	10,0	8,5	7,5	6,1	4,8	3,0	1,4	0,3	-
Verlust der Hemmwirkung %	-	15	25	39	52	70	86	97	

Teststamm: Bacillus mycoides

D. Flüchtige Bestandteile der Phytonzide

1. Ergebnisse der Versuche in Petrischalen

Wie schon anfangs erwähnt, wurde die Wirkung der flüchtigen Bestandteile von Phytonziden durch Existenz und Stärke des Wachstums vom Testorganismus beurteilt und mit Kontrollplatten verglichen. Hier wurden die bakterizide Einwirkungszeit und Einwirkungsmenge registriert.

Bei den Platten, in denen das Testmaterial unterschiedlich lange eingewirkt hatte, wurde die Endbeurteilung nach 7 Tagen durchgeführt. Das fehlende Wachstum nach diesem Zeitraum ergab sich aus der Wirkungsintensität der flüchtigen Stoffe (Einwirkungsmenge und Einwirkungszeit) (Tab. 19; s. Anhang Abb. 5). Die Kontrollplatten wiesen nach 24stündiger Bebrütung starkes Wachstum auf. Die Menge der breiigen Zwiebel betrug 2 bis 12 g in einer Petrischale (Volumen 98 ccm).

Tabelle 19

Wirkung der flüchtigen Bestandteile von Phytonziden aus Zwiebel
auf Bacillus mycoides

Einwirkungszeit (in Stunden)	Menge der breiigen Zwiebel (in Gramm)							
	Kontrolle	2	4	5	6	8	10	12
2.0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
2.5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
3.0	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
3.5	+++	+++	+++	+++	++	++	+	
4.0	+++	+++	++	++	++	+	-	
4.5	+++	+++	++	++	+	+		
5.0	+++	+++	+++	+	+	-		
5.5	+++	++	+	+	+			
6.0	+++	++	+	+	-			
6.5	+++	++	+	-				
7.0	+++	+	-					
7.5	+++	+						
8.0	+++	-						

+++ : starkes Wachstum
++ : mäßiges Wachstum
+ : schwaches Wachstum
- : kein Wachstum

12 g Zwiebel genügten, um sämtliche Keime innerhalb von 3 Stunden abzutöten. Das gleiche geschah bei 10 g Zwiebel innerhalb 4 Stunden. Die Platte mit 2 g Zwiebelbrei mußte 8 Stunden geschlossen bleiben, damit die bakterizide Wirkung erzielt werden konnte. Es ist nicht zweckmäßig, mit mehr als 12 g zu arbeiten, da die Oberfläche entsprechend der Platte gleich bleibt und die Wirkung mit der Menge nicht parallel ansteigt.

Es zeigt sich hier deutlich, daß eine bakterizide Wirkung der flüchtigen Bestandteile der Phytonzide vorliegt. Pflan-

zen mit Phytonzid-Wirkungskönnen auf Grund ihrer flüchtigen Bestandteile mit Erfolg bei der Therapie von Erkältungs- und anderen Infektionskrankheiten der Atemwege verwendet werden.

2. Ergebnisse der Versuche in Weckgläsern

Nach 1-wöchiger Bebrütung konnte bei den Platten, die im Gefäß in 8 cm Abstand von der Testsubstanz aufgehängt waren, kein Wachstum mehr festgestellt werden (Tab. 20). Die Platten, die von der Testsubstanz im Abstand von 13 cm waren, zeigten schwaches Wachstum. Im Abstand von 18 cm kam der Testorganismus zu mäßigem Wachstum. Die Kontrollplatten zeigten bereits nach 24stündiger Bebrütung starkes Wachstum.

Tabelle 20

Wirkung der flüchtigen Bestandteile von Phytonziden aus Zwiebel auf Bacillus mycoides

Einwirkungszeit (in Stunden)	Abstände (in cm)			
	Kontrolle	18	13	8
24	+++	++	+	-

+++ : starkes Wachstum

++ : mäßiges Wachstum

+

schwaches Wachstum

- : kein Wachstum

Der Abstand zwischen dem Testorganismus und dem Testmaterial spielt bei der Wirkung von flüchtigen Stoffen eine große Rolle. Je weiter dieser Abstand ist, um so geringer ist die Wirkung (Tab. 20). Bei einem Abstand von 13 cm tritt unter den gewählten Bedingungen Wachstum auf.

3. Ergebnisse der Versuche in Exsikkatoren

Flüchtige Bestandteile der Phytonzide übten auch auf Luftkeime eine bakterizide Wirkung aus (Tab. 21). Nach 1-wöchiger Bebrütung wurden die Keime gezählt, die auf den Platten zum Wachstum kamen. Die Platten, die mit Zwiebelbrei in demselben Exsikkator gestanden hatten, wiesen bedeutend weniger Kolonien auf als die entsprechenden Kontrollplatten.

Tabelle 21

Wirkung der flüchtigen Bestandteile von Phytonziden aus Zwiebel
auf Luftkeime

Keimzahl im Exsikkator nach einer Einwirkungszeit von 24 Stunden	
Kontrolle	mit Zwiebelbrei beschickt
7, 8, 9	4, 5, 6
Ø 8	5

Da flüchtige Bestandteile der Phytonzide auf die Luftkeime eine selektive Wirkung haben, könnte es möglich sein, daß man sie beim Desinfizieren von Gefäßen und kleineren Räumen mit heranzieht.

E. Lokalisierung der Phytonzide

Nach WINTER & WILLEKE (1952) sind die antibiotisch wirksamen Stoffe in den verschiedenen Organen der Pflanze verteilt (in Blättern, Blattstielen, Stengeln und Wurzeln).

FREERKSEN & BÖNICKE (1951) weisen darauf hin, daß die antimikrobiellen Stoffe in den einzelnen Organen der Pflanze in sehr unterschiedlichen Konzentrationen vorkommen können, wie es von anderen pharmakologisch wichtigen pflanzlichen Inhaltsstoffen ebenfalls bekannt ist. Der gleiche Befund war auch für

antimikrobiell wirksame Inhaltsstoffe der Pflanzen zu erwarten.

ESDORN (1950) berichtet, daß stets dort, wo die Lebenstätigkeit der Zellen besonders rege ist, das meiste ätherische Öl erzeugt wird.

LITTLE & GRUBAUGH (1946), MONIP et al. (1971) ermittelten, daß das antimikrobielle Prinzip "Tomatin" aus Tomate vorwiegend in Blättern und Stengeln vorkommt.

Die Lokalisierung der Phytonzide in Zwiebel wurde hier untersucht. Zwiebeln und oberirdische Blattteile wurden in den Versuch einbezogen (Tab. 22).

Tabelle 22
Lokalisierung der Phytonzide in Zwiebel
(Hemmzone in mm)

Pflanzenteil	Staph. aureus	Esch. coli	Bac. cereus	Sacch. cerevisiae
Zwiebel	4,5	-	6,5	7,0
Blätter	2,0	-	4,5	5,0

Die Menge der Phytonzide variiert je nach dem Teil der Pflanze. Tabelle 22 zeigt, daß die Phytonzide von Zwiebel vorwiegend im unterirdischen Teil der Pflanze lokalisiert sind. In Blättern konnte auch eine Wirkung festgestellt werden. Die Phytonzide werden logischerweise im unterirdischen Teil der Pflanze gespeichert. Die Trockensubstanzmenge im Blattsaft war größer als die im Saft aus unterirdischem Pflanzenteil. Dies besagt, daß der Wirkungsunterschied nicht an der Konzentration des Saftes liegt. Die Assimilationsprodukte werden in den Blättern produziert und in die unterirdischen Pflanzenteile transportiert und dort gelagert. Den gleichen Weg gehen auch die Phytonzide.

Lokalisierung der Phytonzide in Zwiebel

Um dies aufzuklären, wurden die Zwiebeln waagerecht durchgeschnitten, und dazwischen an die Schnittfläche ein Filterpapierstreifen von 1 cm Breite gelegt. Nach 24-stündigem Aufsaugen des Zwiebelsaftes wurden die getränkten Papierstreifen auf das Agar-Medium in Petrischalen übertragen, die mit 1:150 verdünnter Impfsuspension einer 24 Stunden alten Flüssigkeitskultur von Bacillus mycoides oberflächlich beimpft worden waren. Nach 36-stündiger Bebrütung wurde die um die Papierstreifen gebildete Hemmzone gemessen (Tab. 23).

Tabelle 23
Lokalisierung der Phytonzide in Zwiebeln
Hemmzone in mm

Proben	im inneren Gewebe	im äußeren Gewebe
1	-	4,5
2	-	1,8
3	4,0	6,5
4	2,0	2,0
5	-	3,0
6	-	1,5
7	-	2,0
8	-	2,0

Es zeigte sich, daß im äußeren Gewebe eine stärkere Phytonzid-Wirkung vorhanden war als im inneren Gewebe. Um den Einwand auszuschließen, daß der Wirkungsunterschied auf die Konzentration des Saftes zurückzuführen ist, wurde der Wassergehalt des Saftes aus dem inneren und äußeren Gewebe bestimmt. Diese Werte betrugen für das innere Gewebe 86,66 %, für das äußere Gewebe 88,51 %. Obwohl der Saft aus dem inneren Gewebe wasserärmer als der aus dem äußeren war, zeigte er eine schwächere Hemmwirkung (Tab. 23). Damit schien der Nachweis erbracht, daß im äußeren Gewebe der Zwiebel ein relativ hoher Gehalt an

Phytonziden vorliegt. Das mag auch eine Erklärung für die geringe Epiphytenflora sein (s. Seite 29 und Tab. 8).

F. Bedeutung der Phytonzide für die Lagerungsfähigkeit von Gemüse

Wie schon bereits mehrfach erwähnt und eindeutig festgestellt worden war, besitzen die Phytonzide antimikrobielle Eigenschaften. Da Pflanzen Phytonzide enthalten, sind sie in der Lage, sich gegen einen Befall durch Verderborganismen zu schützen. Das läßt den Schluß zu, daß die Phytonzide bei der Lagerung von Gemüse eine Bedeutung haben müssen.

Mit Zwiebeln verschiedener Sorten, die einen unterschiedlichen Phytonzidgehalt aufwiesen, und Zwiebelsaft wurden Lagerungsversuche durchgeführt, wobei während der Lagerung ständig auf den Phytonzidgehalt geprüft wurde.

1. Lagerungsversuche mit Zwiebelsorten

4 Sorten stammten aus Geisenheim und 8 Sorten aus Frankfurt. Die Sorten aus Geisenheim wurden bei 4°C gelagert (Tab. 24), die Sorten aus Frankfurt bei -20°C, +4°C und +25°C (Tab. 25). Die Lagerung dauerte sechs Monate, wobei Fäulnis, Weichwerden und Pilzbefall bei den Sorten gleichzeitig registriert wurden.

Tabelle 24

Lagerungsversuche mit Zwiebelsorten aus Geisenheim

Hemmzone in mm (gegenüber Bacillus mycoides)

Lagertemperatur: 4°C

Lagerungszeit (Monate)	Allround	Juwarund	Primodoro	Ontario
0	10,0	8,9	7,0	6,0
2	9,5	8,0	6,0	5,5
4	9,0	7,5	5,5	5,0
6	8,5	7,0	5,0	4,5

Lagerungsdauer	Datum	Zustand der Sorten
0	1.11.72	eingelagert
3	1. 2.73	Primodoro und Ontario wurden weich und von Pilzen befallen, Juwarund und Allround im guten Zustand
4	1. 3.73	Juwarund war etwas weich
6	1. 5.73	Juwarund und Allround wurden von Pilzen befallen

Die Sorten mit niedrigem Phytonzidgehalt (Primodoro und Ontario) wurden nach dreimonatiger Lagerung weich und von Pilzen befallen. Dagegen waren die Sorten, die höhere Phytonzid-Wirkung zeigten, noch bis zum 6. Lagerungsmonat im guten Zustand (s. Anhang Abb. 6).

Das gleiche wurde auch bei den Sorten festgestellt, die aus Frankfurt stammten.

Tabelle 25

Lagerungsversuche mit Zwiebelsorten aus Ffm.

Hemmzone in mm

Lagerungs- zeit (Monate)	Lager- temp. Sturon	-20°C Ruby	+4°C				+25°C	
			All- round	Prim.	Ontar.	Garn.	St.Ries.	Juwar.
0	10,3	8,3	9,8	8,0	7,6	7,8	8,8	10,5
1	7,0	5,0	9,5	7,5	7,0	7,0	8,5	10,0
2	5,0	3,0	9,0	7,0	6,5	6,5	8,0	9,5
4	4,0	2,5	8,5	6,5	6,0	6,2	7,8	9,0
6	3,0	2,0	8,0	6,0	5,0	5,5	7,5	8,5

Lagerungsdauer	Datum	Zustand der Sorten
0	1.11.72	eingelagert
3	1. 2.73	Ontario und Garnet wurden weich und von Pilzen befallen. Die anderen Sorten sind im guten Zustand
4	1. 3.73	Primodoro wurde weich und verfaulte
6	1. 4.73	Allround, Juwarund, St. Riesen wurden weich und von Pilzen befallen

Nach 3-monatiger Lagerung wurden die Sorten mit niedrigem Phytonzidgehalt (Ontario und Garnet) weich und von Pilzen befallen (s. Anhang Abb. 7). Nach 4-monatiger Lagerung wurde Primodoro weich und verfaulte. Allround, Juwarund und St. Riesen waren bis zum 6. Lagerungsmonat in gutem Zustand. Dagegen verloren Sturon und Ruby, die bei -20°C gelagert wurden, rasch ihre Phytonzid-Wirkung. Hier übte Kälte auf die Phytonzid-Wirkung eine zerstörende Wirkung aus. Die Zwiebeln waren gefroren und zeigten nach dem Auftauen eine weiche Konsistenz. Das ist damit zu erklären, daß Kälte die Struktur ei-

ner lebenden Zelle zerstört, ebenso wie eine hohe Temperatur. Bei den Zwiebeln war ein Pilzbefall nicht zu beobachten.

Zu Lagerungsversuchen mit Zwiebelsorten kann hier ganz allgemein gesagt werden, daß die Sorten, die gute Lagerungsfähigkeit zeigten, am Anfang des Versuches fester und kleiner waren als die Sorten, die nach kurzer Zeit weich und von Pilzen befallen wurden.

2. Lagerungsversuche mit Zwiebelsaft

Mit sterilem und unsterilem Zwiebelsaft wurden bei verschiedenen Temperaturen Lagerungsversuche durchgeführt.

Der sterile Saft wurde von der Sorte Sturon aus Geisenheim gewonnen und bei -20° , $+4^{\circ}$, $+15^{\circ}$ und 25°C aufbewahrt, wobei während der Aufbewahrung auf seinen Phytonzidgehalt untersucht wurde (Tab. 26; s. Anhang Abb. 8).

Tabelle 26

Phytonzid-Wirkung im steril gewonnenen Zwiebelsaft während der Aufbewahrung

Temperatur $^{\circ}\text{C}$	Hemmzone in mm (<u>Bacillus mycoides</u>)						Monate
	0	1	2	3	4	6	
25	8,0	4,0	2,3	1,5	-	-	
15	8,0	5,1	3,5	2,3	2,1	0,9	
4	8,0	6,0	4,4	3,7	3,0	2,9	
-20	8,0	6,4	6,0	6,0	5,9	5,7	

Der unsterile Saft wurde von der Sorte Stuttgarter Riesen ebenfalls aus Geisenheim ausgepreßt und bei -20° , -5° , $+4^{\circ}$, $+10^{\circ}$, $+15^{\circ}$, $+20^{\circ}$ und $+25^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. In bestimmten Zeitabständen wurden die Proben auf ihren Phytonzidgehalt untersucht (Tab. 27; s. Anhang Abb. 9), wobei in den Proben bei 25° , 15° , 4° , -5°

und -20°C außerdem während der Aufbewahrung ständig die Keimzahl bestimmt wurde (Tab. 27; s. Anhang Abb. 10).

Tabelle 27

Phytonzid-Wirkung (H.Z.) und Keimzahl (K.Z.) im unsteril gewonnenen Zwiebelsaft während der Aufbewahrung

Phytonzid-Wirkung (H.Z.) in mm gegenüber Bacillus mycoides

Temp. °C	Monate							
	0	0,5	1	2	3	4	6	7,5
25	H.Z. 10,0	5,3	3,5	2,1	1,5	1,0	-	-
	K.Z. 1200			750		830		1500
20	H.Z. 10,0	6,3	4,9	4,1	3,0	2,4	1,5	1,0
	K.Z.							
15	H.Z. 10,0	6,8	5,5	4,4	3,5	2,9	2,5	2,4
	K.Z. 1200			660		730		1700
10	H.Z. 10,0	8,4	6,1	5,1	4,5	4,2	3,7	3,3
	K.Z.							
4	H.Z. 10,0	9,0	7,1	5,8	5,0	4,5	4,2	4,0
	K.Z. 1200			750		960		790
0	H.Z. 10,0	9,4	8,3	6,6	6,0	5,5	4,8	4,3
	K.Z.							
-5	H.Z. 10,0	9,6	9,4	9,0	8,7	8,2	7,8	7,5
	K.Z. 1200			590		440		170
-20	H.Z. 10,0	9,8	9,7	9,3	9,0	8,5	8,2	8,0
	K.Z. 1200			540		470		460

Die Phytonzid-Wirkung nimmt mit der Aufbewahrungszeit in verschieden starkem Maße ab (Tab. 26 und 27; s. Anhang Abb. 8 und 9). Dabei spielt die Temperatur eine große Rolle. Je niedriger die Aufbewahrungstemperatur, um so länger bleibt die Wirkung erhalten.

Nach sechs Monaten verlor Zwiebelsaft bei 25°C seine gesamte Phytonzid-Wirkung. Bei -5° und -20°C war diese dagegen nur geringfügig abgeschwächt (Tab. 27; s. Anhang Abb. 9). Bei den Zwiebelsorten, die ebenfalls bei -20°C aufbewahrt worden waren, betrug der Verlust an Phytonziden innerhalb 6 Monate für Sturon 70,9 % und für Ruby 75,9 % (Tab. 25).

Während der Saftgewinnung aus Zwiebel werden Phytonzide aus Ausgangssubstanzen durch die Wirkung von Enzymen gebildet. Diese Verbindungen werden während der Lagerung in einer konservierten Form aufgehoben, und die Substanzen bzw. ihre Wirkung bleiben erhalten. Dagegen werden die Ausgangssubstanzen und Enzyme in der ganzen Zwiebel während der Lagerung bei -20°C durch die Kälte denaturiert bzw. inaktiviert. Eine Synthese von wirksamen Phytonziden kann im Saft aus gefrorenen Zwiebeln nicht stattfinden, da sowohl die Ausgangssubstanzen wie auch die Enzyme durch die tiefe Temperatur inaktiviert worden sind. Das mag den Verlust der Phytonzid-Wirkung der Zwiebel nach einer Lagerung bei niedrigen Temperaturen erklären.

Der Verlust der Phytonzid-Wirkung im Saft ließ sich nicht mit einem mikrobiellen Abbau erklären. Um diese Frage zu beantworten, wurden mit dem steril gewonnenen Saft Lagerungsversuche durchgeführt, wobei der gleiche Wirkungsverlust beobachtet wurde (Tab. 26; s. Anhang Abb. 8).

Es wurde eindeutig festgestellt, daß die Phytonzide bei höheren Temperaturen noch schneller verlorengehen, da es sich hier um einen enzymatischen Abbau handelt. Die Saftproben veränderten bei höheren Temperaturen nach bestimmter Zeit ihre Farbe und wurden braun.

Im Zusammenhang mit der Wirkung von Phytonziden nimmt die Keimzahl entsprechend ab (Tab. 27; s. Anhang Abb. 10). Bei Anwesenheit der Phytonzide werden die Organismen unterdrückt. Bei +25° und +15°C ist entsprechend dem hohen Phytonzidgehalt zuerst eine Abnahme zu sehen. Im weiteren Lagerungsverlauf

setzt bei diesen Temperaturen eine starke Keimvermehrung ein, bei gleichzeitigem Verlust an Phytonzid-Wirkung. Bei anderen Temperaturen, bei denen die Phytonzid-Wirkung erhalten blieb, war eine Abnahme der Mikroorganismenzahl zu beobachten. Aus diesen Versuchen ist ein deutlicher Zusammenhang zwischen Mikroorganismenzahl und Phytonzidgehalt zu erkennen.

IV. DISKUSSION

Die Sorgen um eine langfristige Erhaltung unserer Lebensmittel, die benötigten Lebensmittel bei der haushaltsüblichen Aufbewahrung in einer vor dem Verderb geschützten Form zur Verfügung zu halten und lagerungsfähigen Gemüse anzubauen, haben folgende Fragen aufgeworfen: Besitzen die höheren Pflanzen Stoffe mit antimikrobiellen Eigenschaften? Worauf beruht die Widerstandsfähigkeit von Gemüse gegen Verderborganismen? Worauf ist eine unterschiedlich lange Lagerungsfähigkeit bei verschiedenen Sorten einer Gemüseart zurückzuführen? Üben die Standort- und Anbaubedingungen auf die antimikrobiellen Eigenschaften von Gemüse einen Einfluß aus?

Zur Beantwortung dieser Fragen waren Untersuchungen notwendig, die mit Hilfe von drei Methoden durchgeführt wurden. Nachdem die Anwesenheit von Phytonziden bei einigen Gemüsearten festgestellt worden war, wurden die weiteren Untersuchungen mit Zwiebeln durchgeföhrt, da die Zwiebel eine starke Wirkung zeigte und zu jeder Jahreszeit in größeren Mengen erhältlich war. Mit Hilfe der zum Nachweis der Phytonzide verwendeten Lochtestmethode ließ sich die Phytonzid-Wirkung ermitteln. Die Beimpfungsweise der Testplatten ist für das Auftreten und das Ausmessen der Hemmzonen von Bedeutung. Die Beimpfung des noch flüssigen Agars hat sich bei unseren Versuchen am besten bewährt, die Hemmzonen erscheinen deutlich und klar (PICHNARCIK, WENZEL & GISSKE 1969).

Bei der Lochtestmethode, die in jedem mikrobiologischen Labor ohne großen technischen Aufwand durchführbar ist, sind folgende Punkte besonders zu beachten (OBERZILL 1962):

- a) die Art des verwendeten Teststammes
- b) der physiologische Zustand der Testkeime
- c) die Einsaatdichte
- d) die Bebrütungstemperatur
- e) die Beschaffenheit des Nährmediums

- f) die Agarschichtdicke und Art des Agars
- g) die Form und Menge des zu untersuchenden Materials
- h) Art der Aufbringungen des Hemmstoffes und verwendeten Konzentration.

Bei der Lochtestmethode muß man die oben aufgeführten Bedingungen genau beachten, um bei verschiedenen Testorganismen in unterschiedlichen Proben vergleichbare Ergebnisse zu bekommen. Die um das Loch gebildete Hemmzone läßt sehr deutlich und sichtbar die Wirkung des zu untersuchenden Materials auf den Testorganismus erkennen, wobei die Hemmzone in mm ausgedrückt wird.

Wie in den ersten Versuchen nachgewiesen wurde, entwickelten Knoblauch, Zwiebel und bis zu einem gewissen Grad auch Porree die stärkste Phytonzid-Wirkung. Die starke Wirkung bei dieser Pflanzenfamilie ist auf reichliche schwefelhaltige Lauchöle zurückzuführen (STOLL & SEEBECK 1948, VIRTANEN 1968).

Kartoffel zeigte eine schwache Wirkung gegenüber Bacillus cereus. Mit dem gleichen Organismus wurde in Paprika, Sellerie und reifen Tomaten eine antimikrobielle Wirkung nachgewiesen. Tomatensaft aus reifen Tomaten wirkte auch auf Staphylococcus aureus hemmend; der Saft aus unreifen Tomaten war wirkungslos. Das liegt daran, daß die Menge der wirksamen Inhaltsstoffe mit der Entwicklung der Pflanze zunimmt.

Bei Möhre, Rote Beete, Gurke, Aubergine, Grüne Bohne und Rettich war keine antimikrobielle Wirkung nachweisbar. Da bei den Versuchen Gemüsesaft verwendet wurde, war die Konzentration der Phytonzide sehr gering. Deswegen überwiegt hier eine Nährstoffwirkung für Mikroorganismen eine eventuell vorhandene Hemmwirkung. Auf diese Weise wurden die natürlichen Konzentrationsverhältnisse ohne Isolierung und Anreicherung der Hemmstoffe gewahrt, wie sie auch bei der Lagerung von Gemüse auftreten.

Wegen ihres hohen Senfölgehalts waren Blumenkohl, Weißkohl und Meerrettich auch antimikrobiell wirksam.

Es zeigte sich, daß die Phytonzid-Wirkung in Zwiebel zeit- und altersabhängig ist. Bei der Ernte erreichte die Wirkung den höchsten Wert. Ein Anstieg der Phytonzid-Wirkung mit fortschreitender Entwicklung der Pflanze ist damit zu erklären, daß die Phytonzidbildung mit den Stoffwechselprozessen und der Photosynthese in engem Zusammenhang steht. Antimikrobielle Stoffe werden während der Vegetationsperiode als Folge der Lebensfunktionen von Pflanzen gebildet und im Gewebe gelagert. Bei den gleichen Zwiebelsorten, die von unterschiedlichen Standorten stammten, wurden unterschiedliche Phytonzig-Wirkungen festgestellt. Das ist ein Zeichen dafür, daß die Besonderheiten des Bodens (seine Bearbeitung, Lüftung, Bewässerung), das Klima (Niederschlag, Temperatur, Strahlung), die geographische Lage des Standortes und die Düngung eine erhebliche Rolle spielen.

Eine deutliche Beziehung zwischen N-Düngung und dem Gehalt an Phytonziden wurde in Porree und Blumenkohl festgestellt. Lauchöle wie auch Senföle sind N-haltige Verbindungen, deren Bildung weitgehend vom verfügbaren Stickstoff abhängig ist. Je mehr Stickstoff die Pflanze bekommt, um so mehr derartige Stoffe werden gebildet. Andererseits könnte man auf den Gedanken kommen, der allerdings nicht bewiesen ist, daß die Phytonzide bei einem Überangebot und Luxusaufnahme von Nährstoffen eine entgiftende Funktion ausüben.

Bei den Zwiebelsorten, die in die Versuche einbezogen worden waren, wurde unterschiedliche Phytonzid-Wirkungen festgestellt. Obwohl die Sorten am gleichen Standort und unter gleichen Bedingungen angebaut worden waren, zeigten sie unterschiedliche Mengen an antimikrobiellen Stoffen. Es ist allgemein bekannt, daß sich die Sorten bei einer Gemüseart während der Lagerung unterschiedlich lang lagern lassen. Diese sortenbedingten Unterschiede sind erblich und infolgedessen genabhängig.

Pflanzenzüchter bemühen sich haltbare bzw. gegen Krankheiten resistente Pflanzenrassen zu züchten. Resistenzzüchtung bedeutet oft nichts anderes als Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an pflanzeigenen Abwehrstoffen (Phytonzide).

Bei der Feststellung des antimikrobiellen Spektrums von Phytonziden aus Zwiebel verhielten sich die Testorganismen unterschiedlich. Die höchste Empfindlichkeit wurde bei Streptomyceten festgestellt. Gram-positive Mikroorganismen sind im allgemeinen empfindlicher als Gram-negative. Bei Enterobakterien versagte die Wirkung. Ein Unterschied in der Empfindlichkeit zwischen den Sporenbildenden und Nicht-Sporenbildenden konnte nicht nachgewiesen werden. Außer Azotobacter vinelandii und Agrobacterium radiobacter zeigten sich Stickstofflieferanten des Bodens (Azotobacter- und Rhizobienarten) Zwiebelphytonziden gegenüber recht empfindlich. Es ist daher möglich, daß bei größeren Zugaben von Lauchpflanzenteilen in den Boden sich die Zahl dieser Organismen verringert, was in der Landwirtschaft unerwünscht ist.

Phytonzide aus Zwiebel übten auch auf Pilze eine hemmende Wirkung aus. Die von Zwiebel isolierten Pilze Penicillium frequentans, Penicillium expansum, Botrytis allii, Botrytis cinerea und Mucor sp. erwiesen sich beim Lochtest resistent. Sie befielen die Zwiebel und entwickelten ein deutliches Wachstum. Botrytis-Arten, z. B. auch Botrytis allii, werden als Zwiebelhalsfäuleerreger angegeben (CRÜGER 1972). Gliocladium sp. und Fusarium sp., die von zerkleinerten Zwiebelschalen isoliert worden waren, zeigten eine hohe Empfindlichkeit. Diese Pilzarten konnten also nicht zum Wachstum kommen und müssen in der Sporenform vorgelegen haben.

Bei den Pilzstämmen, die aus der Kulturensammlung des Instituts für landwirtschaftliche Mikrobiologie Giessen stammten, waren Aspergillus- und Penicillium-Arten weniger empfindlich als die anderen Stämme. Verschiedene Aspergillen und Penicillien be-

schreibt KIRCHNER (1968) als Lagerfäuleerreger. Phytophthora cactorum war gegen Zwiebel-Phytonzide völlig resistent. Viele Phytophthora-Arten sind als pflanzenpathogen bekannt.

Bei der Keimzahlbestimmung in Salaten wurde festgestellt, daß der Zwiebelzusatz die Zahl von Gesamtkeimen, Anaeroben und Staphylococcen herabsetze. In den Proben, die Zwiebelstückchen und -saft enthielten, fand die Keimvermehrung noch langsamer statt. Dagegen waren Pseudomonaden, Aeromonaden und in einigen Fällen auch Lactobacillen resistent, Zwiebelzusatz wirkte auf diese Keime sogar fördernd. Das erklärt die alte Hausregel, daß Salate mit Frisch-Zwiebeln nicht aufgehoben werden dürfen, sondern zum sofortigen Verzehr vorgesehen sind. Mannit-positive Staphylococcen waren in den meisten Fällen empfindlicher als Mannit-negative Staphylococcen, wobei die Mannit-Positivität mit der Pathogenität parallel läuft. Es bleibt zu erwägen, inwieweit Phytonzide als Therapeutika in der Human- und Tiermedizin eingesetzt werden können.

Außerdem kann hier gesagt werden, daß Lebensmittel mit Zusatz von Phytonziden haltbar gemacht werden können. Da nicht alle Phytonzide temperaturempfindlich sind und ihr Gehalt in den Pflanzen für ihre antimikrobielle Wirkung ausschlaggebend ist, kann man je nach ihrem Vorkommen bei den Gemüsesterilkonserven die Sterilisationszeiten bzw. -temperaturen herabsetzen.

Bei der Keimzahlbestimmung in Gemüsesäften zeigte sich, daß die keimhemmende Wirkung der Säfte auf eine artfremde Mikroflora stärker war als auf die arteigene. Als artfremd wird hier die verwendete Bodensuspension bezeichnet. Das deutet darauf hin, daß die Saftflora aus teilweise resistenten Stämmen besteht.

Es wurde weiterhin festgestellt, daß die Phytonzid-Wirkung der Zwiebel durch erhöhte Temperatur, UV-Bestrahlung und Verdünnung abgeschwächt wird. Durch einen Temperaturanstieg wer-

den die flüchtigen Bestandteile der Phytonzide mobilisiert und können entweichen, außerdem kann es zu einer Thermolyse der Phytonzide kommen.

UV- und Sonnenlicht üben einen ähnlichen Einfluß auf die Phytonzid-Wirkung aus. Durch Sonnenlicht verlieren die Phytonzide von Zwiebel ihre Wirkung innerhalb 24 Stunden. Ein ähnlicher Effekt trat bei UV-Bestrahlung erst nach 144 Stunden auf. Die keimtötende bzw. keimhemmende Wirkung der UV- und Sonnenstrahlen auf Mikroorganismen ist schon lange bekannt (u. a. SWART-FÜCHTBAUER & RIPPEL-BALDES 1951).

Auf Grund dieser Überlegungen ist es durchaus möglich, daß auch eine Strahlenwirkung auf Phytonzide vorliegt. Hier mag es sich um eine Strukturveränderung und Denaturierung der Phytonzide handeln, die bis zur völligen Zerstörung führen kann. Sie werden je nach der eingestrahlten Dosis in verschiedenem Ausmaß geschädigt, so daß die biochemischen Eigenschaften stufenweise verändert werden. Sonnenlicht war hier wirksamer als UV-Strahlen. Das ist darauf zurückzuführen, daß das Sonnenlicht außer Ultraviolettstrahlen zusätzlich noch längerwellige Wärme- und Lichtstrahlen enthält, die auf die Phytonzide eine gewisse Wirkung haben können.

Es hat sich weiterhin gezeigt, daß die Phytonzide aus Zwiebel zum Teil flüchtig sind. Dieses weist darauf hin, daß sie den Charakter von ätherischen Ölen oder ähnliche Eigenschaften besitzen. Diese flüchtigen Bestandteile der Phytonzide von Zwiebel wirken bakterizid. Sie machen sich besonders bei den Lagerungsversuchen von Zwiebelsaft und Zwiebel bemerkbar.

Es wurde beobachtet, daß die antimikrobiellen Substanzen in Zwiebel besonders in unterirdischen Organen lokalisiert sind. In Blättern treten sie im Vergleich dazu nur sehr geringfügig auf. Die unterirdischen Teile sind die Speicherorgane der Zwiebel. Die Stoffe werden in den Blättern erzeugt, in den unterirdischen Teil der Pflanze geleitet und dort gespeichert.

Bei den Lagerungsversuchen mit Zwiebelsorten nahm die Phytonzid-Wirkung mit der Zeit allmählich ab. Hier handelt es sich um ein Entweichen der flüchtigen Bestandteile. Ein enzymatischer Abbau, wie er bei der Aufbewahrung von Zwiebelsaft angenommen wurde, ist auch hier nicht auszuschließen.

Während der Lagerung wurde festgestellt, daß die Sorten mit niedrigem Phytonzidgehalt (Garnet, Ontario und Primodoro) nach 3-monatiger Lagerdauer von Pilzen befallen und weich wurden, wobei die Sorten mit hohem Phytonzidgehalt (Allround, Juwarund, Stuttgarter Riesen) bis zum 6. Lagerungsmonat gut erhalten waren. Hier zeigt sich die Bedeutung der Phytonzide für die Lagerungsfähigkeit.

Bei den Lagerungsversuchen mit Saft zeigte sich, daß die Phytonzid-Wirkung mit der Lagerzeit im Vergleich zu Zwiebeln in noch stärkerem Maße abnahm. Dieser Aktivitätsschwund verlief bei höheren Temperaturen schneller. Der Temperatureinfluß auf die Phytonzid-Wirkung wurde hier wiederum deutlich. Die flüchtigen Bestandteile der Phytonzide gingen ebenfalls allmählich bei der Lagerung verloren. Bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt waren die geringsten Verluste dann zu registrieren, wenn die vorher gewonnenen Säfte in der Kälte gelagert waren. Die bei der Saftgewinnung gebildeten Phytonzide blieben in diesen Säften bei Minus-Temperaturen in unveränderter Form erhalten.

Entsprechend der Abnahme der Phytonzid-Wirkung bei Lagerungstemperaturen von 10°C und 25°C stieg die Keimzahl an. Bei Lagerungstemperaturen von $+5^{\circ}\text{C}$ und -20°C , bei denen die Phytonzid-Wirkung nur sehr geringfügig verloren ging, nahm die Keimzahl deutlich ab. Daß die Phytonzid-Wirkung auch in sterilen Säften zurückging, ist ein Beweis dafür, daß der Wirkungsverlust durch die Temperatur und die Dauer der Lagerung verursacht wurde, und nicht auf einen biologischen Abbau zurückzuführen ist.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Unterschiedliche Resistenz von Gemüse gegen krankheits- bzw. verderbniserregende Mikroorganismen und unterschiedliche Lagerungsfähigkeit von Sorten einer Gemüseart stellen die Frage nach der Ursache dieser Unterschiede. Der Einfluß der Anbaubedingungen auf Vorkommen und Wirkung von Phytonziden stand im Mittelpunkt dieser Arbeit. 16 Gemüsearten wurden auf ihre Phytonzid-Wirkung (antimikrobielle Eigenschaft) gegenüber vier Testorganismen: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus cereus und Saccharomyces cerevisiae geprüft. Zum Nachweis wurde die Lochtestmethode angewandt, Keimzahlbestimmung und Gastestmethode dienten als Hilfsmethoden.

Die Wirkung der Phytonzide ist je nach Gemüseart und Testorganismus unterschiedlich, wobei die größte Wirkung bei Lauchgewächsen beobachtet wurde. Da die Zwiebel neben Knoblauch die stärkste Wirkung aufwies und zu jeder Jahreszeit in größeren Mengen erhältlich war, wurden die weiteren Untersuchungen fast ausschließlich mit Zwiebel durchgeführt.

Es wurde dabei ermittelt, daß der Gehalt der Phytonzide von Alter, Standortbedingungen und Pflanzensorte abhängig ist.

Das antimikrobielle Spektrum von Phytonziden aus Zwiebel wurde gegen 39 Bakterien- und 29 Pilzarten bestimmt. Einige Pilze, die von der Zwiebel isoliert worden waren, zeichneten sich durch eine besondere Resistenz aus.

Die Phytonzid-Wirkung des Zwiebelsaftes nimmt bei Verdünnung, steigender Temperatur, UV- und Sonnenbestrahlung ab.

Phytonzide aus Zwiebel besitzen flüchtige Bestandteile mit hoher bakterizider Wirkung.

Im unterirdischen Teil der Zwiebelpflanze wurde die stärkste Wirkung gemessen, in den Blättern die schwächste. Äußere Ge-

webeteile der Zwiebel besitzen mehr Phytonzide als die inneren.

Bei den Lagerungsversuchen mit Zwiebelsorten wurde beobachtet, daß die Sorten mit niedrigem Phytonzidgehalt anfälliger gegen Pilzbefall waren als Sorten mit hohem Phytonzidgehalt. Die Zwiebelsorten mit hohem Phytonzidgehalt sind für eine längere Lagerung geeigneter als die Sorten mit niedrigem Phytonzidgehalt.

VI. A N H A N G

1. Abbildungen

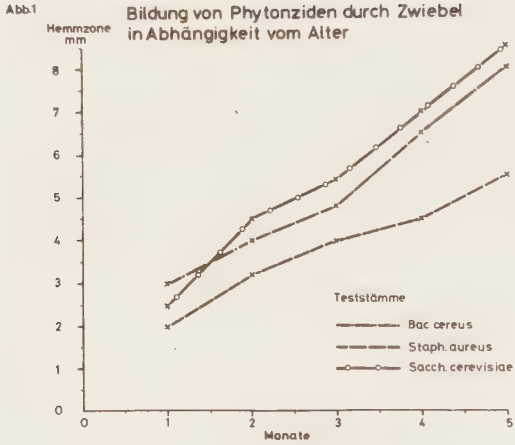


Abb.2 Wirksamkeit von Phytonziden in Zwiebelsaft nach Hitzebehandlung bei 80°C

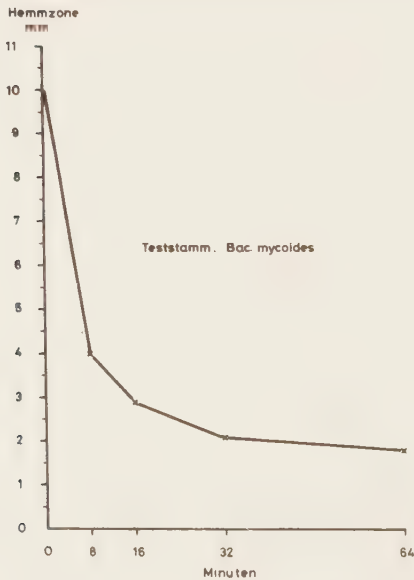


Abb.3 Wirksamkeit von Phytonziden in Zwiebelsaft
nach Bestrahlung durch UV- und Sonnenlicht

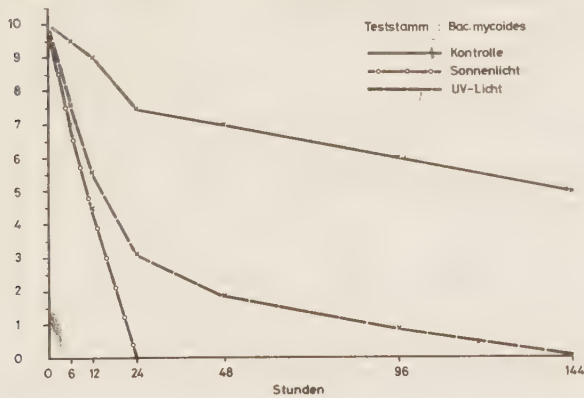


Abb. 4 Wirksamkeit von Phytonziden in Zwiebelsaft verschiedener
Konzentration

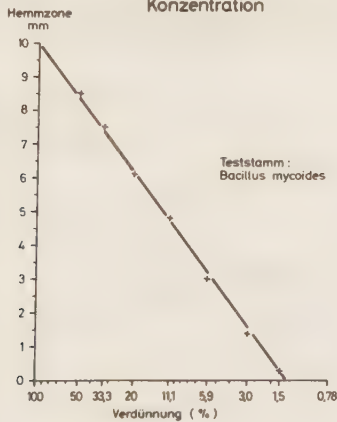


Abb. 5 Bakterizide Wirkung der flüchtigen Bestandteile von Phytonziden aus Zwiebel

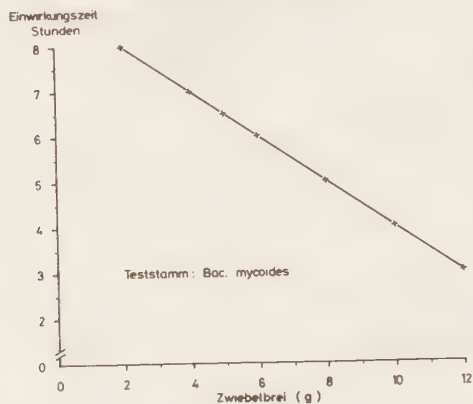


Abb. 6 Abhängigkeit der Phytonzid-Wirkung verschiedener Zwiebelsorten von der Lagerungszeit

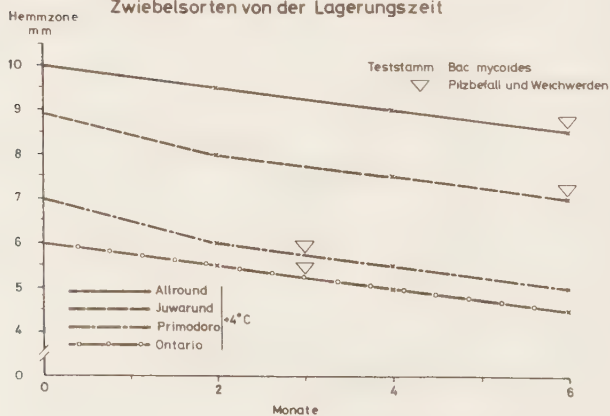


Abb 7 Abhängigkeit der Phytonzid-Wirkung verschiedener Zwiebelsorten von der Lagerungszeit

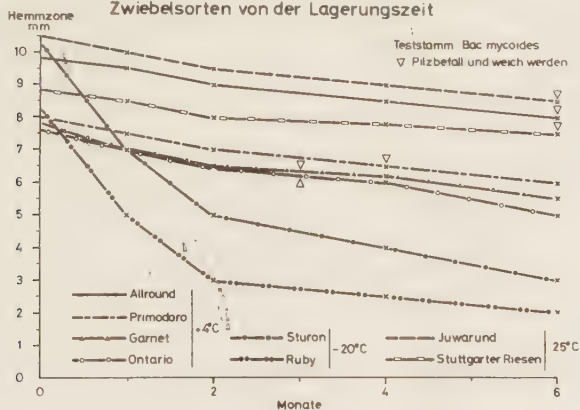
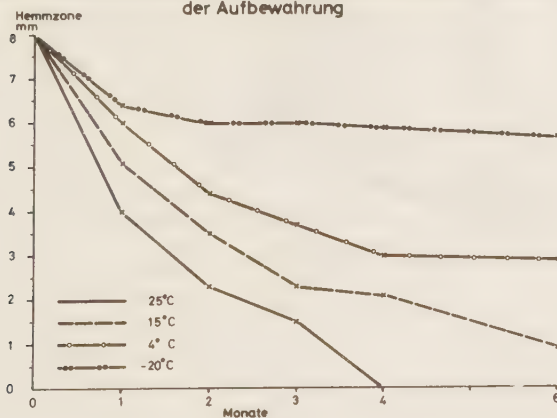


Abb 8 Phytonzid-Wirkung im steril gewonnenen Zwiebelsaft während der Aufbewahrung



Phytonzid-Wirkung im unsteril gewonnenen Zwiebelsaft
während der Aufbewahrung



Abb 9



Tabelle 28

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf Bakterien

Familie	Organismen	Gram- reaktion	Endo- spore	Hemmzone in mm
Micrococcaceae	Micrococcus candidus	+	-	-
"	Staphylococcus albus	+	-	3,8
"	Sarcina	+	-	4,0
"	Staphylococcus aureus	+	-	5,0
"	Micrococcus roseus	variabel	-	6,8
Lactobacteria- ceae	Streptococcus faeca- lis	+	-	2,8
"	Lactobacillus plan- tarum	+	-	3,3
"	Streptococcus lactis	+	-	7,3
"	Lactobacillus casei subsp.rhamnosus ATCC 7469	+	-	7,4
Propionibacte- riaceae	Propionibacterium shermanii ATCC 9614	+	-	8,5
Bacillaceae	Bacillus subtilis	+	+	-
"	" polymyxa	variabel	+	-
"	" megatherium	+	+	6,3
"	" circulans	variabel	+	6,9
"	" cereus	+	+	8,0
"	" mycoides	+	+	8,0
Corynebacte- riaceae	Corynebacterium sp.	+	-	2,0
"	" pyogenes	+	-	8,0
Mycobacteria- ceae	Mycobacterium phlei	+	-	5,3
	" smegmatis	+	-	6,0

Fortsetzung Tabelle 28

Familie	Organismen	Gram- reaktion	Endo- spore	Hemmzone in mm
Micromonospora- ceae	Thermoactinomyces vulgaris	+	-	7,8
"	Thermoactinomyces vulgaris	+	-	8,3
Streptomyceta- ceae	Streptomyces sp.	+	-	9,3
"	"	+	-	11,0
Enterobacteria- ceae	Escherichia coli	-	-	-
"	" freundii	-	-	-
"	Aerobacter aerogenes	-	-	-
"	Serratia marcescens	-	-	-
Pseudomonadaceae	Pseudomonas aerugi- nosa	-	-	-
"	" fluorescens	-	-	-
"	" putida	-	-	-
"	Acetobacter aceti (ATCC 15973)	-	-	3,5
Azotobacteria- ceae	Azotobacter vine- landii	-	-	1,1
"	" chroococcum	-	-	4,0
Rhizobiaceae	Agrobacterium radio- bacter	-	-	2,0
"	Rhizobium trifolii	-	-	5,8
"	" vicia	-	-	6,8
"	" pisum	-	-	7,0
"	" meliloti	-	-	7,6

Tabelle 29

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf Pilze (isoliert)

Pilze	Hemmzone in mm
Penicillium frequentans	-
" expansum	-
Botrytis allii	-
" cinerea	-
Mucor sp.	-
Gliocladium sp.	6,5
Fusarium sp.	6,8
" sp.	7,0

Tabelle 30

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf Pilze (aus Kulturensammlung)

Pilze	Hemmzone in mm
<i>Phytophthora cactorum</i>	-
<i>Penicillium diversum</i>	2,5
" <i>spinulosum</i>	3,3
" <i>stoloniferum</i>	5,8
<i>Aspergillus flavus</i>	4,3
" <i>fumigatus</i>	4,6
" <i>niger</i>	7,0
<i>Scolecobasidium humicola</i>	7,9
<i>Pyrenochaeta acicola</i>	9,5
<i>Stemphylium ilicis</i>	9,8
<i>Colletotrichum dematium</i>	10,9
<i>Alternaria tenuis</i>	11,9
<i>Fusarium solani</i>	8,0
" <i>oxysporium</i> var. <i>pisi</i>	10,0
" <i>tabacinum</i>	13,3
HEFEN	
<i>Candida albicans</i>	5,4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8,3
<i>Cryptococcus neoformans</i>	8,8
<i>Sporobolomyces holsticus</i>	9,1
<i>Cephalosporium ciferri</i>	9,9
<i>Candida tropicalis</i>	10,5

Tabelle 31

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Kartoffelsalats (bei 4°C aufgehoben)

Keime/g Trockensubstanz

Zeitabstände	Mikroorganismen	Kontrolle	Zwiebelzusatz Stücke	Soft
am Anfang	Gesamt	9 217	1 337	1 282
nach 3 Tagen	"	10 138	11 311	7 180
nach 7 Tagen	"	17 512	13 882	12 308
	Anaeroben			
am Anfang	"	9 677	6 530	6 154
nach 3 Tagen	"	10 138	7 198	9 231
nach 7 Tagen	"	12 903	8 740	9 744
	Staphylococcen			
am Anfang	Mannit-positiv	2 166	1 183	1 026
	" -negativ	323	360	308
nach 3 Tagen	" -positiv	2 673	1 234	1 231
	" -negativ	415	463	359
nach 7 Tagen	" -positiv	12 442	1 388	1 744
	" -negativ	1 843	463	513
am Anfang	Pseudomonaden	461	514	1 026
nach 3 Tagen	"	922	1 028	1 026
nach 7 Tagen	"	1 383	1 028	1 026

Tabelle 32

Wirkung von Phyttonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Kartoffelsalats (bei 20°C aufgehoben)

Keime/g Trockensubstanz

Zeitabstände	Mikroorganismen	Kontrolle	Zwiebelzusatz Stücke	Soft
am Anfang	Gesamt	9 217	1 337	1 282
nach 24 Std.	"	10 138	9 255	5 641
nach 3 Tagen	"	17 512	13 882	12 308
am Anfang	Anaeroben	9 677	6 530	6 154
nach 24 Std.	"	10 138	8 226	9 744
nach 3 Tagen	"	10 599	8 740	14 359
Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	2 166	1 183	1 026
	" -negativ	323	360	308
nach 24 Std.	" -positiv	2 489	1 440	1 026
	" -negativ	461	411	308
nach 3 Tagen	" -positiv	12 442	1 542	1 077
	" - negativ	1 843	463	513
am Anfang	Pseudomonaden	461	514	1 026
nach 24 Std.	"	1 383	1 028	1 026
nach 3 Tagen	"	2 765	1 542	1 026

Tabelle 33

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Heringsalats (bei 4°C aufgehoben)

Keime/g Trockensubstanz

Zeitabstände	Mikroorganismen	Kontrolle	Zwiebelzusatz	
			Stücke	Saft
am Anfang	Gesamt	18 221	17 185	13 139
nach 3 Tagen	"	29 475	24 296	19 423
nach 7 Tagen	"	29 475	26 667	25 993
am Anfang	Anaeroben	6 163	3 170	1 370
nach 3 Tagen	"	8 039	3 852	2 142
nach 7 Tagen	"	15 809	8 000	3 142
	Staphylococcen			
am Anfang	Mannit-positiv	80	89	57
	" -negativ	54	30	29
nach 3 Tagen	" -positiv	107	89	57
	" -negativ	54	59	29
nach 7 Tagen	" -positiv	241	119	114
	" -negativ	161	59	29
am Anfang	Pseudomonaden	268	296	286
nach 3 Tagen	"	296	296	286
nach 7 Tagen	"	804	889	1 428

Tabelle 34

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des
Heringsalats (bei 20°C aufgehoben)

Keime/g Trockensubstanz

Zeitabstände	Mikroorganismen	Kontrolle	Zwiebelzusatz Stücke	Soft
am Anfang	Gesamt	18 221	17 185	13 139
nach 24 Std.	"	29 475	17 482	17 424
nach 3 Tagen	"	34 834	32 593	17 995
am Anfang	Anaeroben	6 163	3 852	2 142
nach 24 Std.	"	6 967	4 741	3 142
nach 3 Tagen	"	15 809	8 000	3 142
Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	80	89	57
	" -negativ	54	30	29
nach 24 Std.	" -positiv	134	119	57
	" -negativ	54	59	29
nach 3 Tagen	" -positiv	3 215	356	200
	" -negativ	268	148	57
am Anfang	Pseudomonaden	268	296	286
nach 24 Std.	"	804	889	286
nach 3 Tagen	"	1 876	1 143	1 428

Tabelle 35

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des Eiersalats (bei 4°C aufgehoben)

Keime/g Trockensubstanz

Zeitabstände	Mikroorganismen	Kontrolle	Zwiebelzusatz	
			Stücke	Saft
am Anfang	Gesamt	703 954	145 594	125 000
nach 3 Tagen	"	1 000 000	199 234	313 500
nach 7 Tagen	"	1 064 516	735 632	463 235
am Anfang	Lactobacillen	7 717 042	6 130 268	4 779 412
nach 3 Tagen	"	9 032 258	13 846 153	12 867 600
nach 7 Tagen	"	11 290 323	15 769 231	17 407 407
Staphylococcen				
	Mannit-positiv	2 893	2 299	1 471
am Anfang	" -negativ	1 286	1 533	1 103
nach 3 Tagen	" -positiv	3 214	3 065	3 677
	" -negativ	2 250	1 533	1 471
nach 7 Tagen	" -positiv	4 179	3 448	4 044
	" -negativ	2 572	2 682	2 206
am Anfang	Pseudomonaden	1 929	1 916	1 471
	Aeromonaden	1 607	1 916	735
nach 3 Tagen	Pseudomonaden	3 857	5 747	4 044
	Aeromonaden	3 214	2 299	1 471
nach 7 Tagen	Pseudomonaden	5 465	6 130	4 044
	Aeromonaden	4 500	2 682	2 206

Tabelle 36

Wirkung von Phytonziden aus Zwiebel auf die Mikroflora des Eiersalats (bei 20°C aufgehoben)

Keime/g Trockensubstanz

Zeitabstände	Mikroorganismen	Kontrolle	Zwiebelzusatz	
			Stücke	Saft
am Anfang	Gesamt	703 954	145 594	125 000
nach 24 Std.	"	800 386	793 103	448 529
nach 3 Tagen	"	43 548 387	30 651 340	32 352 941
am Anfang	Lactobacillen	7 717 042	6 130 268	4 779 412
nach 24 Std.	"	10 289 389	10 344 828	8 823 529
nach 3 Tagen	"	1 456 591 000	68 965 500	893 382 300
Staphylococcen				
am Anfang	Mannit-positiv	2 893	2 299	1 471
	" -negativ	1 286	1 533	1 103
nach 24 Std.	" -positiv	4 179	3 065	3 309
	" -negativ	2 572	2 299	2 206
nach 3 Tagen	" -positiv	4 179	3 831	4 044
	" -negativ	2 572	3 831	5 515
am Anfang	Pseudomonaden	1 929	1 916	1 471
	Aeromonaden	1 607	1 916	735
nach 24 Std.	Pseudomonaden	3 214	3 065	2 941
	Aeromonaden	1 607	2 299	2 206
nach 3 Tagen	Pseudomonaden	5 143	4 215	6 250
	Aeromonaden	4 500	2 682	3 677

NÄHRMEDIEN

Nährmedium Nr. 1

Standard I-Nährbouillon (Merck)

Zusammensetzung	(g pro Liter)	
Spezialpepton	15,6	
Hefeextrakt	2,8	pH-Wert: 7,5 <u>±</u> 0,1
Natriumchlorid	5,6	
D(+)-Glucose	1,0	
dest. Wasser	1000,0 ml	

Nährmedium Nr. 2

Standard I-Nähragar (Merck)

Zusammensetzung ist wie Nährmedium Nr. 1 + 1,2 % Agar-Agar

pH-Wert: 7,5±0,1

Nährmedium Nr. 3

Standard II-Nährbouillon (Merck)

Zusammensetzung	(g pro Liter)	
Spezialpepton	8,6	pH-Wert: 7,5 <u>±</u> 0,1
Natriumchlorid	6,4	
dest. Wasser	1000,0 ml	

Nährmedium Nr. 4

Standard II-Nähragar (Merck)

Zusammensetzung	(g pro Liter)	
Spezialpepton	6,9	
Natriumchlorid	5,1	pH-Wert: 7,5 <u>±</u> 0,1
Agar-Agar	13,0	
dest. Wasser	1000,0 ml	

Nährmedium Nr. 5

Malzbouillon

Zusammensetzung (g pro Liter)

Biomalz 20,0 ml

pH-Wert: 4,5-5

Leitungswasser 1000,0 ml

Nährmedium Nr. 6

Malzagar

pH-Wert: 4,5-5

Zusammensetzung

Malzbouillon + 2 % Agar-Agar

Nährmedium Nr. 7

Standard-Keimzählagar (Merck)

Zusammensetzung (g pro Liter)

Fleischextrakt 3,0

Pepton aus Casein (frei von vergärbaren Kohlenhydraten) 5,0

pH-Wert: 7,2 $\pm$ 0,2

Natriumchlorid 5,0

Agar-Agar 12,0

dest. Wasser 1000,0 ml

Nährmedium Nr. 8

SPS-Agar (Sulfit-Polymyxin-Sulfadiazin-Agar) (Merck)

Zusammensetzung (g pro Liter)

Pepton aus Casein 15,0

Hefeextrakt 10,0

Eisen (III)-citrat 0,5

pH-Wert: 7,0 $\pm$ 0,1

Natriumsulfit 0,5

Polymyxin-B-sulfat 0,01

Sulfadiazin-Natrium 0,12

Agar-Agar 13,9

dest. Wasser 1000,0 ml

Nährmedium Nr. 9

Mannit-Kochsalz-Phenolrot-Agar (Merck)

Zusammensetzung	(g pro Liter)	
Spezialpepton	10,0	
Fleischextrakt	1,0	
Natriumchlorid	75,0	pH-Wert: 7,4 $\pm$ 0,1
D(-)-Mannit	10,0	
Phenolrot	0,025	
Agar-Agar	12,0	
dest. Wasser	1000,0 ml	

Nährmedium Nr. 10

APT-(All purpose medium with Tween)-Agar (Merck)

Zusammensetzung	(g pro Liter)	
Pepton aus Casein	12,5	
Hefeextrakt	7,5	
D(+)-Glucose	10,0	
Natriumchlorid	5,0	
tri-Natriumcitrat-2-hydrat	5,0	
di-Kaliumhydrogenphosphat	5,0	
Polyoxyäthylensorbitanmonooleat (Tween 80)	0,2	pH-Wert: 6,7 $\pm$ 0,1
Magnesiumsulfat	0,8	
Manganchlorid	0,14	
Eisen (II)-sulfat	0,04	
Thiamindichlorid	0,001	
Agar-Agar	13,5	
dest. Wasser	1000,0 ml	

Nährmedium Nr. 11

GSP (Glutamat-Stärke-Phenolrot)-Agar (Merck)

Zusammensetzung	(g pro Liter)	
Natrium-(L+)-glutamat	10,0	
Stärke, wasserlöslich	20,0	
Kaliumdihydrogen- phosphat	2,0	pH-Wert: 7,2 $\pm$ 0,2
Magnesiumsulfat	0,5	
Phenolrot	0,36	
Agar-Agar	12,0	
dest. Wasser	1000,0 ml	

Lösung Nr. 1

Isotonische Lösung (Ringerlösung)

Kochsalz NaCl	0,8 %
Kaliumchlorid KCl	0,02 %
Calciumchlorid CaCl ₂	0,02 %
Natriumbicarbonat	
NaHCO ₃	0,1 %

VII. LITERATURVERZEICHNIS

- Al-Delaimy, K.S. and
S.H. Ali Antibacterial Action of Vegetable
Extracts on the Growth of Pathogenic
Bacteria
J. Sci. Food Agric. 21, 110-111
(1970)
- Allen, E.H. and
J. Kuć α -Solanine and α -Chaconine as
Fungitoxic Compounds in Extracts of
Irish Potato Tubers
Phytopathology 58, 776-781 (1968)
- Am. Publ. Hlth. Assoc. Recommended Methods for the Micro-
biological Examination of Foods
(1958)
zit. bei Merck, E., Mikrobiologi-
sches Handbuch (1973)
- Angelotti, R.,
H. E. Hall, M.J. Foter
and K.M. Lewis Quantiation of Clostridium perfringens
in foods
Appl. Microbiol. 10, 193-199 (1962)
zit. bei Merck, E., Mikrobiologisches
Handbuch (1973)
- Ark, P.A. and
J.P. Thompson Control of Certain Diseases of Plants
with Antibiotics from Garlic
(Allium sativum L.)
Plant. Diseas. Report 43, 276-282
(1959)
- Bonfert, W. und
K. Berrang Hemmstoffnachweis im Rahmen der
bakteriologischen Fleischuntersu-
chung
Arch. Lebensmittelhyg. 20, 61-63
(1969)

- Cannon, J.R.,
N.H. Corbett,
K.P. Haydock,
J.G. Tracey and
L.J. Webb
Antibiotic Effects in Plant Communities
Nature 190, 189-190 (1961)
- Cavallito, C.J. and
J.H. Bailey
Allicin, the Antibacterial Principle
of Allium sativum I. Isolation,
Physical Properties and Antibacterial
Action
Am. Chem. Soc. 66, 1950-1951 (1944a)
- Cavallito, C.J. and
J.H. Bailey
Allicin, the Antibacterial Principle
of Allium sativum II. Determination
of the Chemical Structure
Am. Chem. Soc. 66, 1952-1954 (1944b)
- Chapman, G.H.
The significance of sodium chloride
in studies of staphylococci
J. Bact. 50, 201-203 (1945)
zit. bei Merck, E., Mikrobiologisches
Handbuch (1973)
- Crüger, G.
Pflanzenschutz im Gemüsebau
Stuttgart (Ulmer), 119-127 (1972)
- Dold, H. und
A. Knapp
Über die antibakterielle Wirkung
von Gewürzen
Zeitschr. Hyg. 128, 696-706 (1948)
- Dósa, A.
The Effect of Raphanin on the Colo-
nies of Common Pathogenic Fungi
Experientia 6, 18-19 (1950)
- Ericsson, H.
Rational use of antibiotics in hospi-
tals
Scand. J. Clin & Lab. Invest. 12,
1-55 (1960)
- Esdorn, I.
Untersuchungen über den ätherischen
Ölgehalt welkender Pflanzen
Pharmazie 5, 481-488 (1950)

- Evans, J.B. and C.F. Niven Nutrition of the heterofermentative Lactobacilli that cause greening of cured meat products
J. Bact. 62, 599-630 (1951)
zit. bei Merck, E., Mikrobiologisches Handbuch (1973)
- Ferenczy, L. Antibacterial Substances in Seeds
Nature 178, 639-640 (1956)
- Fleming, H.P.
W.M. Walter and
J. L. Etchells Isolation of a Bacterial Inhibitor from Green Olives
Appl. Microbiol. 18, 856-860 (1969)
- Freerksen, E. und
R. Bönicke Über antibakterielle Prinzipien in höheren Pflanzen I
Zeitschr. Hyg. 132, 417-449 (1951)
- Gal, I. Capsicidin, eine neue Verbindung mit antibiotischer Wirksamkeit aus Gewürzpaprika
Zeitschr. Lebensmittelunt. 124, 333-336 (1964)
- Hegenauer, R. Chemotaxonomie der Pflanzen 3, (Birkhäuser) 1964
zit. bei Marquard (1967)
- Kabelik, J. Antimicrobial Properties of Garlic
Pharmazie, 25, 266-270 (1970)
- Kar, A. and
S.R. Jain Antibacterial evaluation of some indigenous medicinal volatile oils
Qual. Plant. Mater. Veg. 20, 231-237 (1971)
- Kämmerer, F.J. Über die antibiotischen Substanzen aus der Tulpe (Tulipa hybrida)
Diss. Bonn (1967)
zit. bei Langenfeld (1970)

- Kessler, B. The Ability of Higher Plants to
Synthesize Antimicrobial Substances
Arch. Biochem. Biophys. 55, 287-289
(1955)
- Kielwein, G. Ein Nährboden zur selektiven Züch-
tung von Pseudomonaden und Aeromona-
den
Arch. Lebensmittelhyg. 20, 131-133
(1969)
zit. bei Merck, E., Mikrobiologisches
Handbuch (1973)
- Kienholz, M. Zur antibakteriellen Wirkung ätheri-
scher Öle
Arzneimittelforsch. 9, 519-521 (1959)
- Kirchner, H.A. Krankheiten und Schädlinge der Zwie-
bel und des Lauchs.
Phytopathologie und Pflanzenschutz 3,
289-298 (1968)
- Klosa, J. Über einige die Keimung von Samen
und das Wachstum von Bakterien hem-
mende Substanzen aus Vegetabilien
Pharmazie 3, 410-413 (1948)
- Klosa, J. Über einige die Keimung von Samen
und das Wachstum von Bakterien hem-
mende Substanzen aus Vegetabilien
Pharmazie 4, 574-577 (1949)
- Langenfeld, R. Beiträge zur Wirkungsweise antibio-
tischer Substanzen aus Gartentulpen
Tulipa gesneriana auf Bakterien
Ztbl. Bakt. II, 124, 460-467 (1970)
- Linser, H. Über das Vorkommen von Hemmstoff
in Pflanzenextrakten, sowie über das
Verhältnis von Wuchsstoffgehalt und
Wuchsstoffabgabe bei Pflanzen oder
Pflanzenteilen
Planta 31, 32-59 (1940)

- Little, J.E. und
K.K. Grubaugh Antibiotic Activity of Some Crude
Plant Juices
J. Bact. 52, 587-591 (1946)
- Lufa Methodenbuch
6, Neumann-Verlag (1970)
zit. bei Merck, E., Mikrobiologisches
Handbuch (1973)
- Ma, R. und
T.D. Fontaine In vitro Antibiotic Activity of
Crystalline Tomatine Toward *Candida*
albicans. Antagonistic Effect of
Rutin and Quercetin
Arch. Biochem. 16, 399-402 (1948)
- Marquard, R.A. Der Einfluß der Schwefelernährung
auf den Senf- und Lauchölgehalt,
sowie die Ertragsbildung bei eini-
gen Pflanzen aus den Familien der
Cruziferen, Tropaeolaceen und
Liliaceen
Diss. Gießen 1967
- Maruzella, J.C. and
H. Marx Antimicrobial Activity of Desert
Plants
Nature 202, 825-826 (1964)
- Merck, E. Mikrobiologisches Handbuch
Darmstadt (Merck) 1973
- Monib, M., Y. Abd-el-
Malek, M.N. Zayed und
M.S.M. Saber Die antibakterielle Wirkung von
trockener Tomatenpflanze, Zwiebel-
schale und Guavablätter auf die Bo-
denmikroorganismen
Ztrbl. Bakt. II, 126, 630-639
(1971)

- Söding, H. und
K. Dörffling
Papierchromatographischer Nachweis
mittels einer neuen Testmethode
von baktericiden Substanzen in Pflan-
zenextrakten und deren möglicher
Zusammenhang mit Wachstumshehmstof-
fen
Arch. Mikrobiol. 60, 182-200 (1968)
- Stoll, A. und
E. Seebeck
Über Alliin, die genuine Muttersub-
stanz des Knoblauchöls
Helv. Chim. Acta 31, 189-210 (1948)
zit. bei Marquard(1967)
- Swart-Füchtbauer, H.
Und A. Rippel-Baldes
Die baktericide Wirkung des Sonnen-
lichtes
Arch. Mikrobiol. 16, 358-362 (1951)
- Synge, R.L.M. und
J.C. Wood
Biochem. J. 60, 15 (1955)
zit. bei Virtanen (1958)
- Tokin, B.P.
Phytonzide
Berlin (VEB Verlag Volk und Gesund-
heit) 1956
- Tomiyaama, K.,
T. Sakuma,
N. Ishizaka, N. Sato,
N. Katsui, M. Takasugi
and T. Masamune
A New Antifungal Substance Isolated
from Resistant Potato Tuber Tissue
Infected by Pathogens
Phytopathology 58, 115-116 (1968)
- Tschesche, R.F.,
J. Kämmerer,
G. Wulff, und
F. Schönbeck
Über die antibiotisch wirksamen Sub-
stanzen der Tulpe (*Tulipa gesneriana*)
Tetrahedron Letters 6, 701-706 (1968)
zit. bei Langenfeld (1970)
- Virtanen, A.I.
Antimikrobiell wirksame Substanzen
in Kulturpflanzen
Angew. Chem. 70, 544-552 (1958)

- Virtanen, A.I. Studies on organic sulfur compounds and other labile substances in plants. *Phytochemistry* 4, 207-228 (1965)
zit. bei Marquard (1967)
- Vonderbank, H. Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberkulose
Pharmazie 4, 198-207 (1949)
- Vonderbank, H. Die Antibiotika außer Penicillin
Pharmazie 5, 210-214 (1950)
- Waksman, S.A. *Mycologia* 34, 565 (1947)
zit. bei Vonderbank (1949)
- Wechselberg, K. Zur tuberkulostatischen Wirkung ätherischer Öle und verwandter Pflanzenwirkstoffe
Zeitschr. Hyg. 144, 564-583 (1958)
- Weichan, C. Zum Einfluß der Lagerung auf den Gehalt an ätherischem Öl bei verschiedener Düngung
Pharmazie 5, 351-352 (1950)
- Weiller, H. und
W. Schuphan Untersuchungen über die antibakterielle Wirksamkeit des ätherischen Öls der Möhre (*Daucus carota* L.) und seiner Bestandteile
Qual. Plant. 15, 81-101 (1967)
- Winter, A.G. und
L. Willeke Untersuchungen über Antibiotika aus höheren Pflanzen und ihre Bedeutung für die Bodenmikrobiologie und Pflanzensoziologie
Naturwiss. 38, 262-264 (1951a)
II. Mitt.
Naturwiss. 38, 354 (1951b)
- Winter, A.G. und
L. Willeke III. Leicht flüchtige Hemmstoffe der Ranunculaceen
Naturwiss. 38, 457-458 (1951c)

Winter, A.G. und
L. Willeke

V. Hemmstoffe in Blättern und
Blattstreu der Gramineen
Naturwiss. 39, 190-191 (1952)

Winter, A.G. und
L. Willeke

VII. Gasförmige Hemmstoffe aus
Lepidium sativum und ihr Verhalten
im menschlichen Körper bei Aufnahme
von *Lepidium*-Salat per os
Naturwiss. 40, 167-168 (1953)

Yardeni, D. and
M. Evenari

The germination inhibiting, growth
inhibiting and phytocidal effect
of certain leaves and leaf extracts
Phyton. Revista internat. de
botanica experimental 2, 11-16
(1952)

Zayed, M.N.,
M.S. Saber,
Y. Abd-el Maleh und
M. Monib

Antibakterielle Substanzen in trok-
kenen Rückständen der einigen höhe-
ren ägyptischen Pflanzen.
Ztrbl. Bak. II, 126, 615-629 (1971)

DANKSAGEN

Mein besonderer Dank gilt den Herren Professoren Dr. E. Küster und Dr. E. Ahrens für die Überlassung des Themas, die Betreuung und für die Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit.

Frau Dr. A. von Klopotek für ihre Hilfe und Herrn Professor Dr. G. Niese für seine Hilfsbereitschaft sage ich ebenfalls meinen besten Dank.

Den Herren Professoren Dr. Fritz, Dr. H. Krug, Dr. Hartmann und Herrn Dr. Schleiff, die die Versuchsproben zur Verfügung gestellt haben, schulde ich hierfür meinen herzlichen Dank.

Ferner danke ich Herrn Professor Dr. W. Mannheim und dem Direktor des Instituts für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere - Giessen, die für die Untersuchungen einige Teststämme zur Verfügung gestellt haben.

Ich danke sehr herzlich allen Institutsangehörigen, insbesondere Frau Schemion.

LEBENS LAUF

- 15.1.1949: geboren als Sohn des Landwirts Duran Özçelik und seiner Ehefrau Zeynep geb. Yildirim in Celaller/Niğde - Türkei
- 1954-1959: Besuch der Volksschule in Celaller
- 1959-1962: Besuch der Mittelschule in Çamardı
- 1962-1965: Besuch des Gymnasiums in Niğde
- 1965-1969: Studium der Landwirtschaft an der Atatürk-Universität in Erzurum/Türkei
- 1969-1970: Wissenschaftlicher Assistent an der gleichen Universität
- 1970-1971: Besuch des Goethe-Instituts in Arolsen/Hess. und Iserlohn/Westf.
- 1971-1974: Anfertigung der vorliegenden Arbeit an dem Institut für landwirtschaftliche Mikrobiologie

Foto-Druck Lenz · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449